

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS FÍSICAS E MATEMÁTICAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**Obtenção de Compostos com Ação Biológica através da Síntese
e Modificação Estrutural de Produtos Naturais.
Estudo de Correlação Estrutura-Atividade**

Doutoranda: Tânia Rosely Pinheiro

Orientador: Profº Dr. Rosendo Augusto Yunes

Co-Orientador: Profº Dr. Hugo Gallardo

Tese submetida à Universidade Federal de Santa Catarina para a obtenção do Grau de
Doutor em Química

Florianópolis, 25 de junho de 2004

AGRADECIMENTOS

Ao Profº Rosendo A. Yunes pela orientação e pelos recursos fornecidos para a realização desta tese.

Ao Profº Hugo Gallardo pelo co-orientação e dedicado empenho para a finalização deste trabalho.

Aos Professores Walmir Silva Gracez e Fernanda Gracez pela participação como membros externos da banca, bem como pela contribuição na versão final da tese.

Aos Profº Ricardo J. Nunes, Maria da Graça Nascimento, Miguel B. Caro pela participação como membros da banca avaliadora.

Ao Profº Valdir Cechinel Filho e equipe pelos ensaios de atividade bactericida realizados na Universidade do Vale do Itajaí (UNIVALI).

Ao Profº João B. Calixto e equipe do Depto de Farmacologia da UFSC pela realização dos testes farmacológicos de analgesia e inflamação.

A Profª Suzana Zacchino e equipe da Universidad Nacional de Rosário (Argentina) pela realização dos ensaios antifúngicos.

Ao Profº Adair Soares e equipe do Depto de Fisiologia Vegetal da UFSC pelos ensaios de atividade antiparasitária.

Aos colegas do laboratório de Estrutura-Atividade da UFSC pelo apoio e amizade, bem como aos demais professores e funcionários do Departamento de Química.

Ao diretor de Assuntos Corporativos e ao gerente do Departamento de Registro de Produtos da Milenia Agro Ciências S/A, Sr. Luiz César A. Guedes e Sr. Jorge L. Alberici, pela disponibilidade de tempo que me proporcionaram para a finalização deste trabalho, bem como no suporte ao fornecimento de reagentes para a finalização da parte experimental.

Ao gerente do Laboratório de Pesquisa e Desenvolvimento da Milenia Agro Ciências S/A, Sr. Emerson J. Braga pela disponibilidade das instalações, equipamentos e reagentes do laboratório da empresa para a finalização da parte experimental do trabalho.

A Cidinha, colega do laboratório da Milenia por realizar análises de CG/EM, bem como aos demais amigos dentro e fora da Milenia que de forma indireta me ajudaram nesta etapa com apoio e incentivo.

Aos meus pais Paulo D. Pinheiro e Irma P. Pinheiro e minhas irmãs Heidi e Jane pelo apoio moral e carinho que me proporcionaram.

À DEUS.

SUMÁRIO

RESUMO	v
ABSTRACT	vi
LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS	vii
SUMÁRIO DE FIGURAS	xi
SUMÁRIO DE TABELAS	xiii
SUMÁRIO DE ESQUEMAS	xiv
SUMÁRIO DE EQUAÇÕES	xv
CAPÍTULO 1 – INTRODUÇÃO.	1
1.1 – Objetivos	5
CAPÍTULO 2 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	6
2.1 – Produto Natural Xantoxilina	6
2.2 –Xantonas de Origem Natural	11
2.3 - Estudos de Correlação Estrutura-Atividade	14
CAPÍTULO 3 – PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL	18
3.1 – Introdução	18
3.2 – Materiais e Métodos	18
3.3 – Isolamento e Síntese da Xantoxilina	19
3.4 – Modificações Estruturais na Xantoxilina e seus Análogos	21
3.4.1 - Reações com Brometos de Fenacila	21
3.4.2 – Reações com Cloretos de Benzeno Sulfonila	26
3.4.3 – Reações com Brometos/Cloretos de Benzila	33
3.5 – Síntese das Xantonas	37
3.5.1 – Síntese dos Intermediários Difenil-Éteres (DFE)	38
3.5.2 – Síntese dos Intermediários Difenil Carboxi	41
3.5.3 – Síntese das Xantonas via Intermediários Difenil-Éteres (DFE)	44
3.5.4 – Síntese das Xantonas via Intermediários Benzofenonas 2,2'-Substituídos	53
3.5.5 – Síntese de Hidróxi-Xantonas	54
3.6 – Testes Biológicos	56
3.6.1 – Atividade Antibacteriana	56
3.6.2 – Atividade Antifúngica	56
3.6.3 – Atividade Antinociceptiva	58
3.6.4 – Atividade Antiparasitária	59
3.7 – Modelo de Correlação Estrutura-Atividade (SAR)	60
3.7.1 – Método Manual de Topliss	61
CAPÍTULO 4 – RESULTADOS E DISCUSSÃO	64
4.1 – Resultados das Sínteses	64
4.2 – Compostos obtidos da Reação com Brometos de Fenacila	68

4.2.1 – Síntese se Caracterização do Composto (5)	69
4.3 – Compostos obtidos da Reação com Cloretos de Benzeno Sulfonila	70
4.3.1 – Caracterização do Derivado (7a)	71
4.3.2 – Síntese dos Derivados (8 e 9)	71
4.4 - Compostos obtidos da Reação com Brometos/Cloretos de Benzila	74
4.4.1 - Caracterização do Derivado (10e)	74
4.5 – Síntese de Xantonas	76
4.5.1 – Síntese dos Intermediários Difenil-Éteres (DFE)	76
4.5.2 – Síntese dos Intermediários Difenil-Carboxi	77
4.5.3 – Síntese das Xantonas via Intermediários Difenil-Éteres (DFE)	78
4.5.4 – Síntese das Xantonas via Intermediários Benzofenonas	80
4.6 – Resultados Biológicos	82
4.6.1 – Atividade Antibacteriana	82
4.6.2 – Atividade Antifúngica	82
4.6.3 – Atividade Antinociceptiva	87
4.6.4 – Atividade Antiparasitária	91
4.6.5 – Correlação Estrutura-Atividade	93
CAPÍTULO 5 – CONCLUSÕES	96
5.1 – Sugestões para a continuidade do trabalho	98
CAPÍTULO 6 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	99
ANEXOS	110
Espectros do Composto (5)	111
Espectros do Composto (7a)	116
Espectros do Composto (10e)	121
Espectros do Composto (12a)	126
Espectros do Composto (14)	131
Espectros do Composto (18)	137
Espectros do Composto (22)	142

RESUMO

O presente trabalho desenvolveu a síntese e modificações estruturais na xantoxilina, produto natural utilizado na medicina popular contra afecções renais. Estas modificações geraram produtos inéditos na literatura até o presente, sendo que alguns derivados sintetizados apresentaram efeitos antifúngicos mais potentes que os fármacos utilizados na clínica atual (Cetoconazol e Anfotericina B), bem como mostraram-se específicos para doenças de pele de regiões tropicais. O modelo de atividade antifúngica de *N. crassa* demonstrou que estes compostos atuam sobre as paredes celulares dos fungos sendo específicos e não tóxicos ao homem.

Alguns destes derivados também foram testados como analgésicos, sendo que com os resultados obtidos foi possível aplicar o método manual de Topliss para realizar estudos de correlação estrutura-atividade qualitativos (SAR). Entretanto estes estudos foram inconclusivos para definir a síntese de novos substituintes.

Outra linha de pesquisa foi desenvolvida dando continuidade a minha Dissertação de Mestrado onde foram isolados produtos naturais da espécie vegetal *Polygala cyparissias*, identificados como xantonas, as quais apresentaram efeitos analgésicos significativos. Neste trabalho foi realizada a síntese de xantonas análogas as já isoladas anteriormente. Estas xantonas análogas demonstraram potente atividade contra fungos dermatófitos, bem como inibiram o crescimento de cepas de *Leishmania amazonensis*, indicando potente atividade antiparasitária para uma doença tipicamente brasileira que não possui tratamento eficaz até hoje.

ABSTRACT

This present dissertation have developed the synthesis and chemical modifications in the structure of xanthoxyline, a natural product used in folk medicine to the treatment of kidney infections. These chemical modifications provide new compound up to now, where some of them have show more potential fungicidal effects than the usual drugs (Ketoconazole and Amphotericin B), as well as showing specific for tropical skin diseases. In the *Neurospora crassa* assay these compounds exert their action by inhibiting assembly of the fungal wall render these compounds be specific and non toxic to human beings.

Some of these compounds were tested as analgesic and the results were useful to apply Structure Activity Relationships (SAR) using the Topliss assay although these results do not allow to define the synthesis of new compounds.

Another line of research was developed following the isolation of natural products from *Polygala cyparissias* and identified as xanthones, which have showed some analgesic effects. In this dissertation was made the synthesis of xanthones analogues. These xanthones have showed potential activity against dermatophytes fungi, as well as inhibition of growth of strains of *Leishmania amazonenses*, indicating antiparasite activity for a typical brazilian disease that do not have an efficient treatment up to now.

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

pf	ponto de fusão
IV	Infra-Vermelho
KBr	brometo de potássio
cm ⁻¹	unidade de número de onda em centímetro recíproco
UV	Ultra-Violeta
CG-EM	cromatografia gasosa acoplada ao detector de massas
eV	eletron volt
m/z	relação massa/carga
RMN ¹ H	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
RMN ¹³ C	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono
TMS	tetrametilsilano
ppm	parte por milhão da frequência aplicada
δ	absortividade molar
Hz	Hertz
MHz	mega Hertz
<i>J</i>	constante de acoplamento
CDCl ₃	clorofórmio deuterado
DMSO	dimetil sulfóxido deuterado
CH	carbono terciário
Cq	carbono quaternário
s	singlete
d	dublete
dd	duplo dublete
t	triplete
m	multiplete
axial Ar	deformação axial aromática
axial alif	deformação axial alifática
axial assim	deformação axial assimétrica
axial sim	deformação axial simétrica
cm	centímetros
μm	micrômetros
μL	microlitros
g	gramas
μg	microgramas

mg	miligramas
mL	mililitros
mmol	milimol
mg/kg	miligramas por kilograma
$\mu\text{mol/kg}$	micromol por kilo
mL/kg	mililitros por kilo
$\mu\text{g/mL}$	microgramas por mililitro
mg/mL	miligramas por mililitro
ng/mL	nanogramas por mililitro
g/mol	gramas por mol
CCD	cromatografia em camada delgada
PA	padrão analítico
d.i.	diâmetro interno
$^{\circ}\text{C}$	grau Celcius
min	minutos
h	horas
NaOH	hidróxido de sódio
DMF	dimetilformamida
CHCl_3	clorofórmio
MgSO_4	sulfato de magnésio
NaCl	cloreto de sódio
HBr	ácido bromídrico
HI	ácido iodídrico
DFE	difenil-éteres
Cu^0	cobre metálico
CuI	iodeto de cobre
K_2CO_3	carbonato de potássio
HCl	ácido clorídrico
KMnO_4	permanganato de potássio
NaBH_4	borohidreto de sódio
CTF	catalisador de transferência de fase
PPA	ácido polifosfórico
K_2HPO_4	fosfato de potássio
DFE o-COOH	difenil-éter orto-carboxi
DFE m-COOH	difenil-éter meta-carboxi
DFE p-COOH	difenil-éter para-carboxi

o-	orto
m-	meta
p-	para
v/v	volume/volume
PM	peso molecular
Rend	rendimento
Ph	grupo fenila
pH	potencial hidrogeniônico
≈	aproximadamente
FDA	Food and Drug Administration
BHP	Hiperplasia Benigna de Próstata
SAR	Structure-Activity Relationship
QSAR	Quantitative Structure-Activity Relationship
DNA	Desoxiribonucleic acid
RNA	Ribonucleic acid
CoA	Coenzima A
HMGCoA	Hidroximetilglutamil Coenzima A
σ	constante de Hammett (efeitos eletrônicos)
π	constante de hidrofobicidade
Es	efeitos estéricos
Log P	coeficiente de partição
<i>Ad libitum</i>	a vontade
sc	sub-cutâneo
ip	intra-peritoneal
vo	via oral
SBF	soro bovino fetal
CIM	Concentração Inibitória Mínima
CI ₅₀	Concentração Inibitória de 50% expressa em mg/kg
DI ₅₀	Dose Inibitória de 50% expressa em $\mu\text{mol/kg}$
IM	Inibição Máxima
H	hidrogênio
Cl	cloro
Br	bromo
F	fluor
OH	hidroxi
Cl ₂	dicloro

CH_3

metila

OCH_3

metoxila

NO_2

nitro

SUMÁRIO DE FIGURAS

FIGURA 1 – Estrutura da Xantoxilina (1)	7
FIGURA 2a-e – Estruturas das Xantonas isoladas de <i>Polygala cyparissias</i>	12
FIGURA 3 – Estrutura da 1,7-dihidroxi-2,3-metilenodioxi-xantona (3)	12
FIGURA 4a – Estrutura do Composto (4a)	22
FIGURA 4b - Estrutura do Composto (4b)	24
FIGURA 4c - Estrutura do Composto (4c)	25
FIGURA 5 – Estrutura do Composto (5)	23
FIGURA 6 – Estrutura do Composto (6)	25
FIGURA 7a – Estrutura do Composto (7a)	27
FIGURA 7b – Estrutura do Composto (7b)	28
FIGURA 7c – Estrutura do Composto (7c)	28
FIGURA 7d – Estrutura do Composto (7d)	29
FIGURA 7e – Estrutura do Composto (7e)	30
FIGURA 7f – Estrutura do Composto (7f)	31
FIGURA 8 – Estrutura do Composto (8)	31
FIGURA 9 – Estrutura do Composto (9)	32
FIGURA 10a – Estrutura do Composto (10a)	34
FIGURA 10b – Estrutura do Composto (10b)	35
FIGURA 10c – Estrutura do Composto (10c)	35
FIGURA 10d – Estrutura do Composto (10d)	36
FIGURA 10e – Estrutura do Composto (10e)	37
FIGURA 11a – Estrutura do Composto (11a)	39
FIGURA 11b – Estrutura do Composto (11b)	40
FIGURA 11c – Estrutura do Composto (11c)	40
FIGURA 11d – Estrutura do Composto (11d)	41
FIGURA 12a – Estrutura do Composto (12a)	42
FIGURA 12b – Estrutura do Composto (12b)	43
FIGURA 12c – Estrutura do Composto (12c)	44
FIGURA 13 – Estrutura do Composto (13)	46
FIGURA 14 – Estrutura do Composto (14)	46
FIGURA 15 – Estrutura do Composto (15)	47
FIGURA 16 – Estrutura do Composto (16)	48
FIGURA 17 – Estrutura do Composto (17)	49
FIGURA 18 – Estrutura do Composto (18)	50
FIGURA 19 – Estrutura do Composto (19)	50
FIGURA 20 – Estrutura do Composto (20)	51
FIGURA 21 – Estrutura do Composto (21)	52
FIGURA 22 – Estrutura do Composto (22)	54

SUMÁRIO DE TABELAS

TABELA 1 – Principais Antifúngicos em uso e seu modo de ação	8
TABELA 2 – Valores dos parâmetros físico-químicos π e σ e ambos relacionados	61
TABELA 3 – Ordem de potência para vários parâmetros físico-químicos	63
TABELA 4 – Proposta de Topliss para a seleção de novos substituintes	63
TABELA 5 – Valores de deslocamentos de RMN ^1H para os compostos (4a, 5 e 6)	70
TABELA 6 - Valores de deslocamentos de RMN ^1H para os compostos (7a-f, 8 e 9)	73
TABELA 7 – CIM ($\mu\text{g/mL}$) da atividade antifúngica dos derivados contra fungos dermatófitos	83
TABELA 8 – CIM (mmol/mL) da atividade antifúngica dos derivados contra fungos dermatófitos	83
TABELA 9 – Avaliação i vitro do modo de ação dos derivados no modelo <i>N. crassa</i>	84
TABELA 10 - CIM ($\mu\text{g/mL}$) da ativ. antifúngica de metil-xantonas contra fungos leveduriformes	85
TABELA 11 - CIM ($\mu\text{g/mL}$) da ativ. antifúngica de metil-xantonas contra fungos dermatófitos	86
TABELA 12 - CIM (mmol/mL) da ativ. antifúngica de metil-xantonas contra fungos dermatófitos	86
TABELA 13 – Efeito analgésico dos derivados de 1 no modelo da formalina, via i.p.(mg/kg)	88
TABELA 14 – Efeito analgésico dos derivados de 1 no modelo da formalina, via i.p.(mmol/kg)	88
TABELA 15 - Efeito analgésico dos derivados de 1 no modelo da formalina, via oral (mg/kg)	90
TABELA 16 - Efeito analgésico dos derivados de 1 no modelo da formalina, via oral (mmol/kg)	90
TABELA 17 – Efeito das xantonas no crescimento de cepas de <i>L. amazonensis</i> ($\mu\text{g/mL}$)	91
TABELA 18– Efeito das xantonas no crescimento de cepas de <i>L. amazonensis</i> (mmol/mL)	92
TABELA 19 – Efeito das xantonas no crescimento de cepas de <i>T. cruzi</i> ($\mu\text{g/mL}$)	93
TABELA 20 – Resultados de DI_{50} para os derivados benzeno sulfonílicos	93
TABELA 21 – Ordem de potência dos derivados da xantoxilina, expressos em $\text{Log } 1/\text{DI}_{50}$	94

SUMÁRIO DE ESQUEMAS

ESQUEMA 1 – Biossíntese do Ergosterol e do colesterol	10
ESQUEMA 2 – Síntese da Xantoxilina	20
ESQUEMA 3 – Síntese dos Derivados Benzofurânicos	22
ESQUEMA 4 – Síntese dos Derivados Benzeno Sulfonílicos	26
ESQUEMA 5 – Síntese dos Derivados Benzilados	33
ESQUEMA 6 – Síntese dos Difenil-Éteres	38
ESQUEMA 7 – Síntese dos Difenil-Éteres Carboxi	42
ESQUEMA 8 – Síntese das Xantonas via Difenil-Éteres	45
ESQUEMA 9 – Síntese da Xantona via Benzofenona 2,2'-Substituída	53
ESQUEMA 10 – Síntese de Hidróxi Xantonas	54
ESQUEMA 11 – Síntese dos Derivados da Xantoxilina	65
ESQUEMA 12 – Síntese dos Análogos da Xantoxilina	66
ESQUEMA 13 – Síntese das Xatonas	67
ESQUEMA 14- Mecanismo propostos para a formação dos Derivados Benzofurânicos	68

SUMÁRIO DE EQUAÇÕES

EQUAÇÃO 1 – Efeitos eletrônicos de σ	14
EQUAÇÃO 2 – Equação de Hammett	15
EQUAÇÃO 3 – Modificação da Equação de Hammett	15
EQUAÇÃO 4 - Efeitos estéricos (E_s)	15
EQUAÇÃO 5 – Coeficiente de Partição n-octanol/água (P_x)	16
EQUAÇÃO 6 – Modificação do Coeficiente de Partição n-octanol/água (P_x)	16
EQUAÇÃO 7 – Equação de Hansch	16
EQUAÇÃO 8 – Equação completa de Hansch	16
EQUAÇÃO 9 – Equação para o cálculo da inibição máxima de crescimento de cepas	60

1- INTRODUÇÃO

Com o objetivo de encontrar a cura para as velhas e novas enfermidades atualmente pesquisadores se enfrontam pelas matas brasileiras. A história mostra o quanto as plantas podem contribuir para manter ou restabelecer a saúde humana.

A compreensão desse fato remete a outro importantíssimo debate de nossos dias: como explorar esses recursos sem o prejuízo do esgotamento? O Instituto Nacional do Câncer dos Estados Unidos já listou pelo menos duas mil plantas tropicais possivelmente utilizáveis no combate a tumores. Outras tantas, ainda desconhecidas ou não devidamente analisadas, guardam substâncias certamente capazes de salvar milhões de vidas. Muitas dessas espécies estão desaparecendo, vítimas da extração predatória efetuada por laboratórios e farmácias de manipulação, das queimadas e da devastação promovida pelos madeireiros.

A proteção da biodiversidade é hoje parte de estratégicos projetos de saúde pública do mundo inteiro. Muitas plantas, facilmente cultiváveis, podem prevenir graves doenças e economizar bilhões de dólares gastos anualmente em caros tratamentos hospitalares. Entre outras vantagens, os remédios naturais normalmente produzem menor número de efeitos colaterais nos pacientes. Profissionais da área da saúde lembram que um medicamento ofertado diretamente pela natureza pode ser a solução eficaz e barata para os problemas do corpo. Os produtos industrializados costumam ter apenas um ingrediente ativo sintetizado a partir dos vários fármacos do vegetal. Este, muitas vezes, tem menor eficácia terapêutica do que o fitocomplexo, o complicadíssimo coquetel químico da planta [Carraro et al, 1996].

O mundo das plantas medicinais mobiliza hoje milhares de engenheiros agrônomos, biólogos, químicos, farmacólogos, botânicos, farmacêuticos, bioquímicos e médicos de todos os continentes. Entre eles, há pelo menos uma certeza: as plantas medicinais são fáceis de usar, mas difíceis de se conhecer cientificamente, representando assim duros desafios. Anos e anos são gastos em pesquisas para identificar princípios ativos e propriedades curativas.

Por parte dos pesquisadores brasileiros, infelizmente muitos projetos nacionais de estudo de plantas medicinais foram paralisados por um longo tempo no início da década de 80, devido à desativação de programas financiados pela Central de Medicamentos (CEME) do Ministério da Saúde, hoje extinta. Das 21 plantas incluídas em uma lista de prioridades de pesquisa da CEME, em 1983, apenas uma teve um estudo completo [Carvalho, 1998].

Ao mesmo tempo, estudos aprofundados sobre o tema são realizados permanentemente por laboratórios estrangeiros, concluindo-se que quando se trata de

produtos naturais, são necessários tempo e dinheiro para alcançar um diagnóstico confiável. As similaridades morfológicas entre diferentes espécies usadas na medicina popular com o mesmo propósito, por exemplo, são fonte inesgotável de trabalho. Um exemplo típico desta dificuldade foi destacado pelos exaustivos estudos realizados com o gênero *Phyllanthus* (Euphorbiaceae), o popular “quebra-pedra”. As espécies de *Phyllanthus* são tão parecidos exteriormente que o desafio é descobrir quais deles são, de fato, eficazes na expulsão e destruição de cálculos renais. Outras espécies deste gênero também demonstraram importantes efeitos no combate ao vírus da Hepatite B [Liu et al, 2001; Ling et al, 2003] e o vírus HIV [Notka et al, 2003], além de um pronunciado efeito analgésico [Calixto et al, 1997, 1998, 2000].

Existem várias metodologias descritas para a preparação de extratos vegetais com o objetivo de identificar os princípios ativos e isolá-los [Ugaz, 1994; Cechinel Filho et al, 1998; Rates, 2001]. Depois, verificam-se suas estruturas químicas, propriedades terapêuticas e sua toxicidade [Cañigual, 2002]. Na fase seguinte, checa-se a eficácia farmacológica/biológica. Para isso, são executados os estudos pré-clínicos que são os testes “in vitro”, com culturas de células, e testes “in vivo”, em animais [Pintao et al, 1995; Bonina et al, 2000]. Nestes estudos pesquisam-se as dosagens e sua toxicidade. Depois de detalhadamente identificado e aprovado, o ingrediente ativo é finalmente submetido a testes clínicos, em seres humanos [Kinghorn, 2001].

Simultaneamente, a planta é estudada por botânicos e engenheiros agrônomos. Determina-se em que tipo de solo ela se desenvolve, qual a quantidade de água e de luz necessária a sua manutenção, as temperaturas que tolera e quais são seus inimigos naturais. Muitas vezes, a mudança em um fator ambiental pode inibir ou impedir o crescimento da planta, bem como alterar o(s) princípio(s) ativo(s) responsável(is) por suas propriedades terapêuticas [Maciel et al, 2002].

Depois de concluído o processo de checagem das propriedades terapêuticas de uma planta, os químicos têm como opção reproduzir artificialmente seu princípio ativo. Conhecido o(s) princípio(s) ativo(s), pode-se tentar sintetizá-lo(s) em laboratório. A elaboração do componente sintético permite que se evite a extração da planta para a produção do medicamento. Esse trabalho de identificação e cópia é complexo e demorado [Pandey, 1998]. Nesta etapa também ressalta-se a importância de obter princípios ativos mais eficazes, a partir de algumas modificações estruturais, feitas também em laboratório, nos ingredientes ativos previamente isolados e identificados das plantas [Fischer et al, 2001].

Um dos exemplos de êxito descoberto na década de 70 foi o Taxol, um diterpenóide isolado das cascas do vegetal *Taxus brevifolia* (Taxaceae), planta nativa dos EUA, que tem grande eficácia contra tumores [Kingston, 1991]. Depois de anos de

pesquisa, os laboratórios conseguiram obtê-lo sinteticamente em 23 etapas de síntese, sendo posteriormente aprovado pelo FDA (Food and Drug Administration), órgão federal de registro de produtos farmacêuticos nos EUA, onde hoje se encontra no mercado sendo comercializado pelo National Câncer Institute e pela empresa Bristol-Meyer Squibb Co. Outro exemplo de sucesso foi o isolamento do extrato lipofílico por extração supercrítica da espécie vegetal *Serenoa repens*, sendo que os constituintes deste extrato (esteróides e flavonóides) são amplamente utilizados no tratamento de hiperplasia benigna de próstata (BHP), sendo que hoje o mesmo se encontra no mercado farmacêutico sob o nome de Permixon [Carraro et al, 1996]. Nesta mesma linha os flavonóides glicosilados e os terpenos isolados das folhas da planta *Ginkgo biloba* são amplamente utilizados no combate à fadiga mental [Raskin et al, 2002].

Assim, pesquisas realizadas nesta área mostram que a busca de novas substâncias bioativas a partir de fontes naturais seria o caminho mais racional, tanto na síntese como na modificação estrutural, para a obtenção de compostos mais potentes, específicos e seletivos. Assim, o presente estudo engloba uma importante área da química orgânica, a química medicinal.

A química medicinal, ou química biomedicinal compreende a síntese ou o isolamento de compostos com atividade biológica, a elucidação estrutural, a caracterização das propriedades físico-químicas, a determinação da atividade biológica, a exploração desta atividade a nível molecular e o estudo das relações entre estrutura química e atividade biológica (SAR/QSAR). [Hansch, 1993; Romeiro et al, 2003; Amaral et al, 2002; Ferreira et al, 2002].

A química medicinal não precisa, necessariamente, conduzir ao estudo das relações entre estrutura química e a atividade biológica, qualitativa ou quantitativamente. A identificação do grupo farmacofórico, por exemplo, constitui uma etapa essencial no descobrimento de novos fármacos sem que a estrutura química seja, eventualmente descrita por métodos matemáticos que contenham as propriedades relevantes de uma dada atividade farmacológica. O que parece ser importante, na realidade, é o descobrimento da substância matriz. Quando um produto natural apresenta uma certa atividade farmacológica, sua estrutura é modificada com o objetivo de melhorar ou ampliar suas propriedades. E, como consequência natural dos avanços em métodos sintéticos, de separação e técnicas bioquímicas, a descoberta de drogas pode ser realizada através de uma metodologia mais racional que envolva elementos de um planejamento [Montanari, 2000; Montanari, 1995; Barreiro, 1991].

A modificação estrutural é um dos métodos mais racionais utilizados para melhorar a potência e/ou seletividade de compostos ativos ou para otimizar a atividade de princípios ativos naturais. Muitas mudanças podem ser introduzidas numa molécula

dependendo de seus grupos funcionais. Assim, a importância dos estudos de correlação estrutura-atividade como uma ferramenta para a obtenção de compostos mais ativos tem um papel fundamental para a compreensão tanto do mecanismo de ação destes compostos, bem como na síntese racional de novas moléculas [Montanari et al, 2001].

1.1 - Objetivos

Os objetivos do presente trabalho foram:

1. Realizar modificações estruturais no produto natural 2-hidroxi-4,6-dimetoxi-acetofenona (xantoxilina), tais como:

- reações com brometos de fenacila substituídos;
- reações com cloretos de benzenossulfonila substituídos;
- reações com cloretos/brometos de benzila substituídos;
- reações dos haletos de fenacila e benzenossulfonila substituídos nos análogos bioativos da xantoxilina tais como 2-hidroxi-6-metoxi-acetofenona e 2-hidroxi-acetofenona.

2. Realizar a síntese de xantonas e alguns de seus análogos, isoladas da espécie vegetal *Polygala cyparissias*, uma vez que três delas apresentaram promissores efeitos analgésicos [Pinheiro, 1996].

3. Submeter os derivados sintetizados aos testes biológicos, onde serão obtidas as respostas biológicas necessárias aos estudos de correlação estrutura-atividade. Os testes que foram realizados são de atividade antibacteriana, antifúngica, analgésica, antiinflamatória e antiparasitária.

4. Organizar os resultados obtidos nos testes biológicos para definir quais os compostos que serão avaliados em estudos de correlação estrutura atividade, seguindo uma série descrita pelo método manual de Topliss, que direciona a obtenção de cinco derivados com os seguintes grupos substituintes: H, 4-Cl, 4-CH₃, 4-OCH₃, 3,4-Cl₂. Na sequência, realizar estudos de correlação estrutura-atividade, conforme os resultados obtidos nos testes biológicos. A partir destes resultados pode-se indicar futuras moléculas mais potentes e/ou eficazes aos modelos biológicos utilizados.

2- REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

O presente trabalho teve como fundamento a continuidade de duas linhas de pesquisa anteriormente desenvolvidas em nosso grupo de pesquisa. Assim o mesmo foi dividido nas partes descritas a seguir.

2.1 – Produto natural Xantoxilina

O composto 2-hidroxi-4,6-dimetoxi-acetofenona, é um produto natural, também conhecido por xantoxilina (**1**), encontrado abundantemente nas partes aéreas da espécie vegetal *Sebastiania schottiana* (Euphorbiaceae), sendo tema de estudos do nosso grupo de pesquisa durante 10 anos, produzindo vários artigos já publicados conforme descritos a seguir, dando assim sequência ao desenvolvimento de futuros fármacos a partir desta molécula.

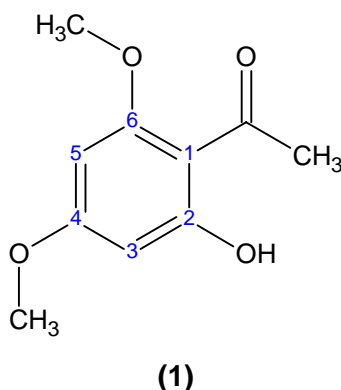
Sebastiania schottiana, conhecida popularmente como “sarandi”, “branquilha” ou “branquinho”, é uma planta que ocorre abundantemente no sul do país, sendo amplamente utilizada na medicina popular em forma de chás contra afecções renais. Estudos realizados com os extratos desta planta revelaram que os mesmos exercem consideráveis efeitos antiespasmódicos quando avaliados em distintos órgãos isolados contraídos por diferentes neurotransmissores [Calixto et. al., 1986 e 1990].

Posteriormente, foi determinado que a xantoxilina é o principal constituinte ativo da planta, sendo isolada com rendimento de aproximadamente 0,25% [Miguel, 1987]. Este composto, além de ações antiespasmódicas, apresenta atividade antibacteriana [Godoy et. al., 1991] e antifúngica [Lima et. al., 1994; Cechinel Filho et. al., 1996a] contra vários microrganismos causadores de infecções em seres humanos.

Os efeitos biológicos e o bom rendimento da xantoxilina levaram ao desenvolvimento de uma Dissertação de Mestrado [Cechinel Filho, 1991], onde esta molécula foi submetida à várias modificações estruturais, cujos derivados foram testados no íleo isolado de cobaia contraído pela acetilcolina e histamina. Alguns dos compostos obtidos foram até 20 vezes mais potentes que a própria xantoxilina neste modelo [Cechinel Filho, 1991].

É importante ressaltar que os derivados benzilados, contendo diferentes grupos substituintes no anel benzílico, possibilitaram a realização de estudos de correlação entre estrutura química atividade biológica, onde, com o uso do método de Topliss, foi possível “desenhar” novos derivados mais ativos como antiespasmódicos [Cechinel Filho et. al., 1993, 1995a, 1995b; Heinzen et al., 1999]. Pela modificação do método manual de Topliss também foi possível obter uma correlação quantitativa para vários compostos

com distintas atividades biológicas através da escolha dos parâmetros coerentes para cada correlação linear [Yunes et al, 2002].



Outros estudos desenvolvidos na UFSC com a xantoxilina, utilizada como protótipo, possibilitaram a obtenção de novos derivados farmacologicamente ativos tais como os benzofurânicos, que apresentaram promissores efeitos analgésicos, antiedematogênicos e antialérgicos [Cechinel Filho, 1995b; Cechinel Filho et. al., 1996b; Vaz et. al., 1996], sendo mais potentes do que vários fármacos usados na clínica como aspirina, acetaminofeno, indometacina e ibuprofeno.

Foi verificado na literatura que derivados benzofurânicos possuem atividade antiinflamatória, gastrointestinal e analgésica [Janusz et al, 1998], atuando ainda como antagonistas da Adenosina A₁ [Hutchinson et al, 1997].

Devido aos relevantes resultados descritos, o objetivo foi encontrar um derivado que possuía efeito semelhante aos já encontrados para os benzofurânicos em outras vias de administração, para posteriormente avaliar o mecanismo de ação dos mesmos.

Devido aos vários efeitos demonstrados pela xantoxilina e tendo esta uma estrutura química relativamente simples, buscou-se a síntese da mesma em nosso laboratório a partir da acilação de 2,4,6-trihidroxibenzeno, conhecido como floroglucinol, reagindo com acetonitrila, formando primeiramente a floroacetofenona [Vogel, 1989] e posteriormente realizando-se a metilação das duas hidroxilas com sulfato de dimetila [Dave et al, 1960].

Como já citado acima, devido aos promissores resultados obtidos pela atividade antifúngica da xantoxilina, deu-se continuidade a esta linha de pesquisa, sendo que estes testes tem por objetivo determinar compostos com potencial antifúngico visando a determinação do mecanismo de ação.

Sabe-se que os antifúngicos mais utilizados hoje em dia não são específicos, atuando nas vias metabólicas dos fungos e também dos mamíferos, sendo que o enfoque principal na busca de compostos com atividade antifúngica são aqueles que atuam

somente na biossíntese dos fungos, tornando-os específicos e ausentes de efeitos colaterais ao homem [Rai et al, 2003; Zacchino et al, 2003].

Assim, defini-se abaixo os principais alvos para detectar compostos antifúngicos sobre a [Zacchino et al, 2003]:

- A) Biossíntese de esteróides da membrana fúngica;
- B) Ação sobre a parede celular fúngica;
- C) Ação sobre a síntese de DNA/RNA

Os ensaios baseados no mecanismo de ação tem como alvo componentes estruturais dos fungos (ensaios realizados com a célula inteira) ou uma via metabólica definida do microrganismo (inibidores enzimáticos), sendo que ambos atuam na parede celular (B) [Zacchino et al, 2003].

Os ensaios realizados com a célula inteira dividem-se em:

- Método Quantitativo *Neurospora crassa*;
- Bioensaio de Sorbitol;
- Má formação das hifas.

Os inibidores enzimáticos dividem-se em:

- Glucano-sintetase;
- Quinina-sintetase.

Os principais grupos de agentes antifúngicos em uso clínico atual devem sua atividade à interação direta com o ergosterol formando complexos, ou inibindo algumas etapas da sua síntese (A) (Tabela 1) [Katzung, 1995; Brody et al, 1995; Rai et al, 2003].

Tabela 1 – Principais antifúngicos em uso e seu modo de ação [Zacchino et al, 2003].

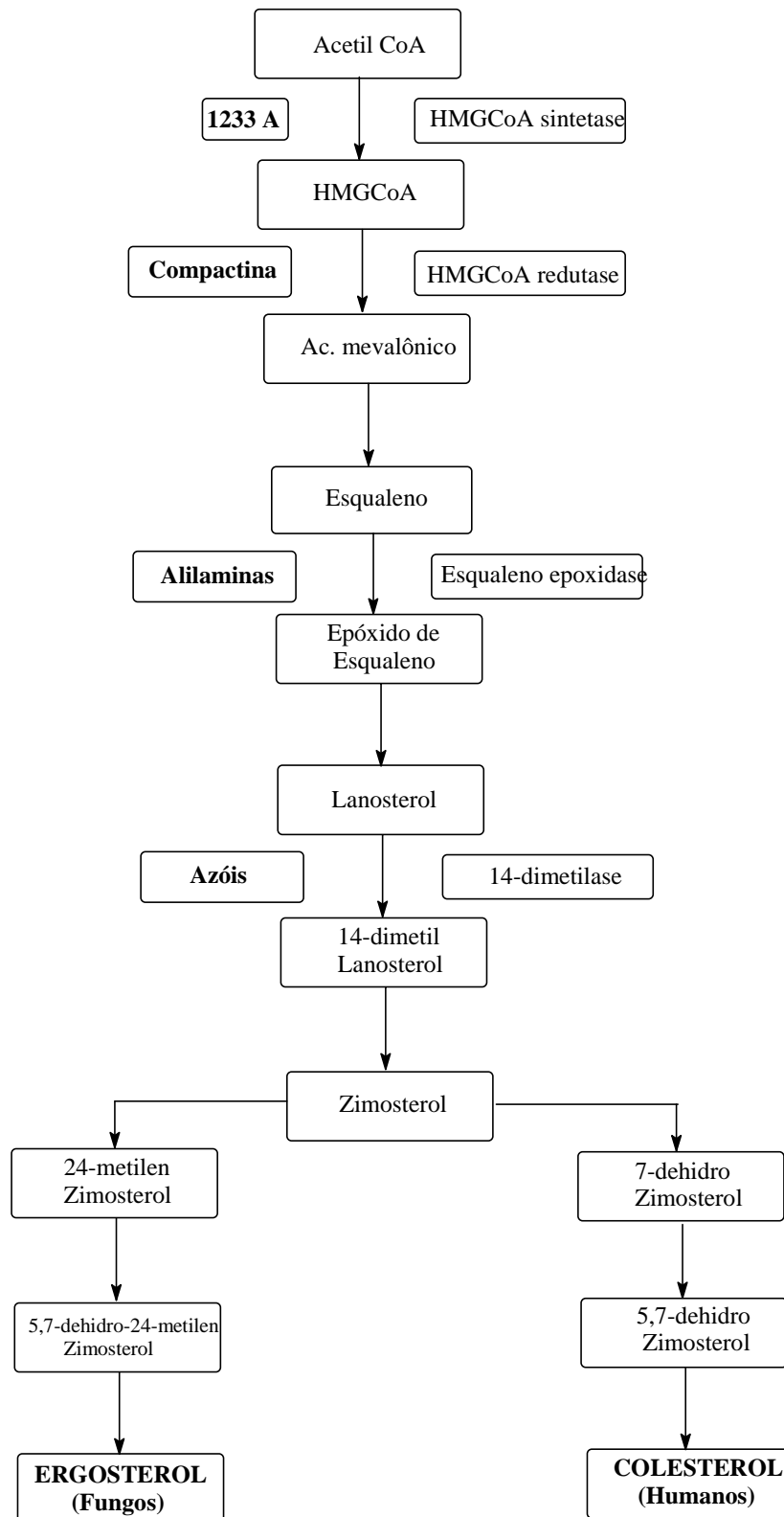
Droga	Modo de Ação
<u>Polienos</u> Anfotericina B Nistatina	Formação de complexos com o ergosterol da membrana fúngica.
<u>Azóis</u> Cetoconazol Fluconazol Itraconazol Clotrimazol Outros azóis	Interferem na biossíntese do ergosterol inibindo a 14-dimetilase.

<u>Alilaminas</u>	
Terbinafina Naftifina	Interferem na biossíntese do ergosterol inibindo a esqualeno-epoxidase.
5-flucitosina	Inibe a síntese de RNA/DNA

Os esteroides estão presentes em todas as células fúngicas. O principal esterol das leveduras e muitos outros fungos é o ergosterol. Seu papel principal é modular a fluidez da membrana (troca de íons e nutrientes) e evitar suas alterações por flutuações nas condições ambientais. Além disso, os esteróides têm um papel vital nos fungos, regulando o crescimento e proliferação celular. O Esquema 1 mostra a biossíntese do ergosterol e do colesterol e as etapas que são bloqueadas pelos distintos compostos antifúngicos utilizados na clínica atualmente [Zacchino et al, 2003].

Diante do exposto, é de interesse a continuidade dos estudos visando analisar o comportamento de outros substituintes na atividade apresentada pela xantoxilina e seus derivados, bem como testá-los em outros modelos biológicos.

Os resultados do presente trabalho que foram obtidos destes estudos orientarão a futura síntese de outras moléculas, otimizando a aplicação de equações de correlação entre estrutura molecular e atividade biológica.



Esquema 1 – Biossíntese do ergosterol e do colesterol. Os quadros a direita mostram as enzimas e os quadros a esquerda em negrito, mostram os inibidores destas enzimas [Zacchino et al, 2003].

2.2 – Xantonas de Origem Natural

Outra linha de pesquisa desenvolvida em nosso laboratório foi o estudo com a espécie vegetal *Polygala cyparissias*, a qual apresentou importantes resultados vistos sob o ponto de vista químico e farmacológico, levando ao desenvolvimento de uma Dissertação de Mestrado [Pinheiro, 1996]. Esta planta, característica do litoral sul do Brasil e outros países da América do Sul, é utilizada na medicina popular como ativador da circulação local devido à alta concentração de salicilato de metila, contido principalmente nas raízes do vegetal [Wasicky, 1944].

Estudos realizados em nossos laboratórios demonstraram que o extrato hidroalcoólico (EH) obtido de caules e folhas desta planta apresentou significativa ação antinociceptiva em vários modelos relacionados com a dor, tanto de origem inflamatória como neurogênica. Na avaliação da atividade antiedematogênica, o EH de *P. cyparissias* apresentou pronunciada ação, tanto por via oral como intraperitoneal, contra vários agentes flogísticos ou mediadores químicos envolvidos nos processos inflamatórios [Campos, et al., 1997].

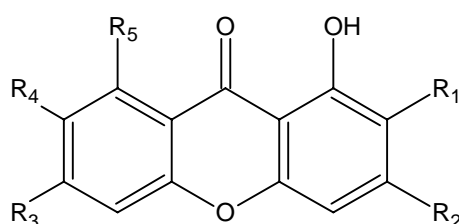
Além disso, o EH foi efetivo como antialérgico em distintos modelos experimentais [El Sayah, et al, 1999]. Estes resultados mostraram claramente que o EH de todas as partes de *P. cyparissias* apresenta princípios ativos capazes de antagonizar de forma significativa as respostas edematogênicas e contraturantes causadas por vários mediadores químicos diretamente envolvidos nas reações inflamatórias e alérgicas. Sendo assim, estes resultados indicam que *P. cyparissias* contém princípios com potencial atividade antialérgica, antiinflamatória e propriedades analgésicas, quando administradas em camundongos.

Com relação aos constituintes químicos do gênero *Polygala*, os estudos fitoquímicos demonstraram a presença de vários metabólitos de diferentes classes químicas como esteróides, flavonóides glicosilados e principalmente saponinas e xantonas, além do salicilato de metila [Pinheiro, 1996].

Dados da literatura mostram que xantonas naturais vem sendo alvo de estudos como uma importante classe de compostos orgânicos com grande potencial biológico e/ou farmacológico, mostrando-se eficazes como inibidores de alergias e asma [Jones et al, 1977]; bem como apresentando atividade antiinflamatória [Lin et al, 1996a; Chung et al, 2002], antimalárica [Likhitwitayawuid et al, 1998], anti-cancer [Lin et al, 1996b; Gobbi et al, 2002], anti-tumoral e citotóxica [Abou-Shoer et al, 1988; Dall'Ácqua et al, 2002], mediadoras da proteína C Kinase [Saraiva et al, 2002], bactericida [Pickert et al, 1998a; Cortez et al, 2002] e fungicida [Moreau et al, 2002]. Também foram encontrados efeitos de xantonas contra o vírus HIV [Dharmaratne et al, 2002]; como agentes inibidores de

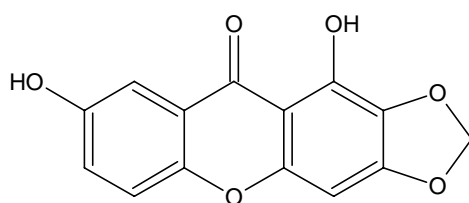
osteoporose [Da Re et al, 1996], agentes diuréticos [Koga et al, 1989], agentes anti-hipertensivos e/ou anti-trombóticos [Lin et al, 1996c], e contra antagonistas dos canais de cálcio [Rampa et al, 1995; Chiarini et al, 1992].

Estudos fitoquímicos realizados em nossos laboratórios com *P. cyparissias* demonstraram que as xantonas são os constituintes químicos predominantes nesta espécie. Desta forma, foi possível isolar e identificar seis xantonas, conforme mostrado abaixo e um esterol, sendo que três xantonas (**2c**, **2d** e **3**) não haviam sido descritas na literatura [Pinheiro et al, 1998].



(2a-e)

Xantonas	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅
2a	H	OH	H	OCH ₃	H
2b	OCH ₃	OCH ₃	H	OH	H
2c	OCH ₃	OH	OH	OCH ₃	OH
2d	OCH ₃	OH	H	OH	H
2e	OCH ₃	OH	OH	OCH ₃	H



(3)

Os testes farmacológicos mostraram que a xantona (**3**) (1,7-dihidroxi-2,3-metilenodioxo-xantona) e a xantona (**2b**) (1,7-dihidroxi-2,3-dimetoxi-xantona) exercem potente atividade analgésica quando avaliadas em distintos modelos experimentais em camundongos, sugerindo que estes compostos são os responsáveis, pelo menos em parte, pelos efeitos apresentados pelo EH de *P. cyparissias* [Pinheiro, 1996].

Assim, foi verificado através de cromatografia em camada delgada, revelada com distintos reagentes específicos [Marini-Betollo et al., 1981] a presença de outras xantonas presentes em menor concentração, mas que podem apresentar efeitos farmacológicos de interesse. Cabe ressaltar também que os extratos mais polares apresentaram testes positivos para saponinas e flavonóides glicosilados [Pinheiro, 1996].

Outra forma de obtenção de xantonas é a preparação em laboratório das mesmas. Assim, verificou-se que as xantonas sintéticas, na sua maioria, são obtidas pela síntese dos intermediários diaril-éteres e posteriormente formam xantonas por acilação Friedel-Crafts intramolecular, ou por acilação Friedel-Crafts formando os intermediários benzofenonas e posteriormente por desidratação, formando assim as xantonas.

A síntese dos intermediários diaril-éteres é baseada na reação clássica de fenóis com haletos de arila nas condições de Ullmann [Lindley, 1984], usando catalisadores de cobre, tanto na forma de sais como na forma do próprio metal devido à baixa nucleofilicidade do fenóxido e a baixa reatividade dos haletos de arila envolvidos. Estas reações, além de apresentarem rendimentos baixos, são feitas em temperaturas variando entre 120 – 250 °C, usam-se solventes com altos pontos de ebulição e longos tempos de reação que variam entre 12 a 96 horas.

Atualmente, devido às inúmeras aplicações destes compostos na química orgânica, principalmente nas áreas farmacêutica, agroquímica e de polímeros, estas reações foram otimizadas, onde mostra-se que alguns catalisadores mais específicos tais como o paládio [Aranyos et al, 1999; Mann et al, 1999], alguns complexos de ferro e rutênio [Pearson et al, 1992], complexos com ferro e hexafluorofosfato [Storm et al, 2000], e catalisadores à base de cetonas simétricas, tais como 2,2,6,6-tetrametilheptan-3,5-diona [Buck et al, 2002], demonstraram melhorar os rendimentos destas sínteses.

Outras otimizações foram feitas nas reações de Ullmann, tais como o uso de ultrassom, onde o tempo e o rendimento das reações foram drasticamente melhorados [Smith et al, 1992], o uso de ácido borônico na presença de acetato de cobre (II) que levou a formação do produto em temperatura ambiente [Theil, 1999], e recentemente o uso de micro-ondas que fez com que estas reações ocorressem entre 5 a 10 min. sem o uso de catalisadores, fornecendo rendimentos entre 70 - 98% [Li, 2003].

A outra metodologia utilizada para a formação de xantonas compreende a reação de acilação Friedel-Crafts entre um cloreto de ácido orto-substituído e um fenol formando o intermediário benzofenona, que por ciclização com hidróxido de tetrametilamônio forma a xantona [Lin et al, 1992]. Especificamente para a síntese de hidroxixantonas a reação é realizada entre os ácidos benzóicos e fenóis na presença de cloreto de zinco e oxicloreto de fósforo [Grover et al, 1954]. Para a síntese de hidroxixantonas, pode-se também proteger os grupo hidróxi do anel fenólico pela silanização dos mesmos [Pillai et al, 1986; Johnson et al, 1976].

2.3 – Estudos de Correlação Estrutura-Atividade

A modificação estrutural é um dos métodos mais racionais utilizados para melhorar a potência e/ou seletividade de compostos ativos ou para otimizar a atividade de princípios ativos naturais. Muitas mudanças podem ser introduzidas numa molécula dependendo de seus grupos funcionais, tais como:

- Variação de substituintes;
- Alteração da estrutura;
- Extensão ou contração de cadeias alquílicas;
- Extensão ou contração de anéis;
- Mudança de anel;
- Rigidificação da estrutura.

Assim, a importância dos estudos de correlação estrutura-atividade como uma ferramenta para a obtenção de compostos mais ativos tem um papel fundamental para a compreensão tanto do mecanismo de ação destes compostos, bem como na síntese racional de novas moléculas [Montanari, 2001; Yunes et al, 2001].

Neste contexto uma preocupação fundamental é analisar o mecanismo de ação farmacológica, bem como conseguir uma orientação qualitativa a respeito da relação estrutura-atividade. Estes dois fatores permitirão definir métodos de modificação estrutural ou de síntese de análogos, para se obter compostos com potencial característico para o alcance de um fármaco.

Em 1935, L.P. Hammett [Hanch et al, 1995] deu sua enorme contribuição na elucidação de mecanismos de reação biológicos e bioquímicos. Ele postulou que o efeito dos substituintes na ionização de ácidos benzóicos poderia ser utilizado como um sistema modelo para estimar os efeitos eletrônicos dos substituintes. Assim, σ representa o parâmetro que define os efeitos eletrônicos através da seguinte equação:

$$\sigma = \log K_X - \log K_H \quad \text{Eq.1}$$

onde:

- K_H é a constante de ionização do ácido benzóico em água à 25 °C
- K_X é a constante de ionização do ácido benzóico meta ou para substituídos em água à 25 °C.

Valores positivos de σ representam grupos retiradores de elétrons do anel aromático ($\sigma_{4-\text{NO}_2} = 0.78$), e valores negativos de σ representam grupos doadores de elétrons do anel aromático.

Assim, pode-se escrever a Equação de Hammett a seguir:

$$\log K_X = \rho\sigma + \log K_H \quad \text{Eq. 2}$$

ou

$$\log K_X / \log K_H = \rho\sigma \quad \text{Eq. 3}$$

Entretanto, rapidamente reconheceu-se algumas limitações na aplicação da equação de Hammett com substituintes em posição orto, os quais não forneciam boas correlações [Hansch et al, 1995]

Outros fatores foram importantes para avaliar a atividade biológica são os efeitos estéricos (Es), relacionados com o tamanho molecular e sua ocupação no espaço. Taft definiu este parâmetro na hidrólise ácida catalisada de um acetato α -substituído, conforme a equação 4. Este parâmetro é padronizado para o grupo CH_3 ($\text{XCH}_2\text{CO}_2\text{CH}_3$; onde $\text{X}=\text{CH}_3$), assim $\text{Es}(\text{CH}_3) = 0,0$; onde é possível padronizá-lo para um átomo de H pela adição de 1,24 unidades para cada valor de $\text{Es}(\text{CH}_2)$ [Hansch et al, 1995].

$$\text{Es} = \log K_{\text{XCOOCH}_3} - \log K_{\text{CH}_3\text{COOCH}_3} \quad \text{Eq. 4}$$

Os parâmetros estéricos usados para calcular os valores dos substituintes tem como base os ângulos de ligação, raio de van der Waals, comprimento de ligações, entre outros.

Outro fator que avalia a atividade biológica foi definido por Hansch e colaboradores [Hansch et al, 1995], onde a ação de um fármaco é dependente de dois processos, a saber:

- Processo relacionado com a “viagem” do fármaco, a partir do ponto de entrada no corpo até o sítio de ação, chamado de “parâmetro farmacocinético”;
- Processo que resulta na interação do fármaco com o sítio específico, chamado de “parâmetro farmacodinâmico”.

Hansch imaginou que a fluidez da região hidrocarbônica da membrana poderia explicar a capacidade de um composto em se particionar entre n-octanol, que simularia a membrana lipídica, e a água (fase polar).

Assim, seu trabalho foi baseado nos efeitos hidrofóbicos (π) ou coeficiente de partição ($\log P$), onde este último pode ser obtido experimentalmente a partir de um sistema octanol/água [Hansch et al, 1995].

$$P_X = \frac{C_{X \text{ n-octanol}}}{C_X \text{ água}} \quad \text{Eq. 5}$$

ou

$$\pi_X = \log P_H - \log P_X \quad \text{Eq. 6}$$

Onde P_H e P_X são coeficientes de partição da molécula com substituintes H e X, respectivamente. Um valor positivo de π significa que o grupo substituinte aumentará a solubilidade do composto na fase orgânica (apolar); e um valor negativo de π indica que o composto será mais solúvel na fase aquosa (polar).

Hansch e colaboradores iniciaram um longo de trabalho que resultou no principal método de correlação entre estrutura química e a atividade biológica, sendo que o mesmo relaciona as propriedades físico-químicas como a constante de hidrofobicidade (π), obtida a partir do $\log P$, o grau de ionização e os efeitos eletrônicos σ (indutivos e ressonantes) e os fatores estéricos (Es) com a atividade biológica.

Finalmente em 1961, 15 anos após o início dos estudos é que a primeira equação quantitativa de correlação estrutura-atividade foi proposta, conforme a equação 7 [Hanch et al, 1995]:

$$\log 1/C = a \log P + b \log \sigma + c \quad \text{Eq. 7}$$

onde C = concentração do fármaco necessária para produzir o efeito biológico, geralmente expresso pela DI_{50} , dose que causa inibição de 50% na resposta biológica. Os fatores a, b e c são constantes obtidas por métodos estatísticos calculados para uma série de compostos. Posteriormente foi adicionado o valor do efeito estérico (Es), tornando a equação de Hansch mais completa:

$$\log 1/C = a \log P + b \log \sigma + c Es + d \quad \text{Eq. 8}$$

Além destes métodos quantitativos de correlação existem outros modelos teóricos como o uso de mecânica quântica [Gupta et al, 1983], métodos extra-termodinâmicos [Montanari et al, 1997], entre outros.

Em outra área de trabalho, o estudo da relação qualitativa entre estrutura e atividade poderá, mediante a aplicação do método proposto por Topliss [Topliss, 1977], orientar novas modificações, uma vez que este é o mais simples de correlação.

Utilizando os princípios básicos de Hansch, Topliss desenvolveu dois métodos para correlacionar qualitativamente a estrutura química com a atividade biológica. O primeiro método, denominado “Método da Árvore de Decisão” [Topliss, 1972], onde consiste em um modelo realizado em etapas a partir das mudanças nas propriedades físico-químicas dos compostos, tais como hidrofobicidade e efeitos eletrônicos. Este

método não será utilizado devido ao longo tempo para a obtenção dos derivados, já que é um modelo por etapas e requer grande disponibilidade de reagentes para síntese, além de exigir uma maior inter-relação entre os Departamentos de Química e Farmacologia e/ou Microbiologia.

O segundo método é denominado “Método Manual” e consiste em um modelo não estatístico e não computadorizado, o mesmo pode ser utilizado para prever quais grupos substituintes podem ser introduzidos em determinada molécula para aumentar significativamente sua atividade biológica [Topliss, 1997].

Uma das condições requeridas para a aplicação deste método é que exista um anel aromático na estrutura, fato este que 60% dos fármacos possui.

O método manual de Topliss requer a síntese de 5 derivados contendo os seguintes substituintes: H, 4-Cl; 3,4-Cl₂; 4-CH₃ e 4-OCH₃, os quais são acessíveis como material de partida, bem como possuem diferentes parâmetros a serem analisados. A atividade biológica é avaliada pelos parâmetros π e σ e suas combinações.

É importante ressaltar alguns exemplos de sucesso na aplicação do método manual de Topliss, sendo este empregado na série dos derivados benzilados da xantoxilina, contendo diferentes grupos substituintes no anel benzílico, que possibilitaram a realização de estudos de correlação entre estrutura química atividade biológica, onde foi possível “desenhar” novos derivados mais ativos como antiespasmódicos [Cechinel Filho et. al., 1993, 1995a, 1995b; Heinzen et al., 1999]. Pela modificação do método manual de Topliss, também foi possível obter uma correlação quantitativa para os vários compostos com distintas atividades biológicas através da escolha dos parâmetros coerentes para cada correlação linear [Yunes et al, 2002].

3 - PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

3.1 – Introdução

Os procedimentos experimentais adotados neste trabalho foram baseados em metodologias de síntese tais como reações de condensação Aldólica, reações de Ullmann, acilação Friedel-Craft, entre outras. Somente a xantoxilina foi isolada da espécie vegetal *Sebastiania schottiana* (Euphorbiaceae), a qual foi a molécula-base para as modificações estruturais descritas a seguir.

No que concerne a identificação e caracterização das substâncias sintetizadas, foram utilizadas as seguintes técnicas espectrométricas [Cromatografia Gasosa com Detector de Massas (CG-EM)] e espectroscópicas [Infra-Vermelho (IV), Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN ^1H) e Ressonância Magnética Nuclear de Carbono (RMN ^{13}C)], bem como a determinação do ponto de fusão de cada composto.

3.2 - Materiais e Métodos

O monitoramento das reações e a verificação da pureza dos produtos obtidos foram feitos por cromatografia em camada delgada (CCD) empregando-se placas de alta resolução de sílica-gel GF₂₅₄ em folhas de alumínio (Merck). Os solventes utilizados em CCD foram todos P.A. com sistema de fase móvel hexano/acetato de etila 70:30 (% v/v).

Nas colunas cromatográficas, tanto no isolamento da xantoxilina como na separação e purificação de alguns produtos de síntese, foi utilizada sílica gel 60 Merck de granularidade 70-230 mesh (0.063 – 02 mm). Os solventes empregados para este fim bem como para as reações foram todos P.A.

As substâncias aplicadas nas placas cromatográficas (CCD) foram reveladas sob radiação UV usando MINERALIGHT 254 e 365 nm e também em câmaras de iodo.

As análises de cromatografia gasosa foram realizadas em aparelho de Cromatografia Gasosa de Alta Resolução HP 5890 Series II PLUS – GAS CHROMATOGRAPH acoplado a WORKSTATION. As injeções foram feitas em coluna capilar HP-1(30 m de comprimento, 0.25 mm d.i. e revestida internamente com uma película de 0.25 μm da fase estacionária Crosslinked Methyl Siloxane) utilizando hélio como gás de arraste nas seguintes condições cromatográficas:

- Temperatura do injetor: 240 °C
- Temperatura do detector: 280 °C
- Temperatura da coluna: 100 – 250 °C
- Velocidade de aquecimento: 20 °C/min
- Isoterma: 50 minutos.

As determinações dos pontos de fusão das substâncias sintetizadas foram realizadas em Aparelho de Ponto de Fusão APF – 301 da marca Microquímica, e não sofreram correções.

Os espectros de absorção na região de Infravermelho foram obtidos em espectrofotômetro FT Perkin Elmer 16 PC, com as substâncias incorporadas em pastilhas comprimidas de brometo de potássio (KBr) anidro. As absorções foram registradas em unidade de número de onda em centímetro recíproco (cm^{-1}).

Os espectros de Massas foram obtidos no Espectrômetro de Massa Modelo HP 5972 Series MASS SELECTIVE DETECTOR, sob impacto de feixe eletrônico de 70 eV, acoplado ao Cromatógrafo Gasoso de Alta Resolução descrito anteriormente.

Foram obtidos espectros de ^1H e ^{13}C em Espectrômetro de Ressonância Magnética Nuclear da Bruker AC-200F. Os deslocamentos químicos foram expressos em valores adimensionais δ (ppm) em relação a um padrão interno de tetrametilsilano (TMS). Os solventes deuterados utilizados foram clorofórmio (CDCl_3) e dimetilssulfóxido (DMSO). As constantes de acoplamento (J) foram expressas em Hertz (Hz). As multiplicidades dos sinais são indicadas como segue: s = singlete; d = dublete; dd = duplo dublete; t = triplete e m = multiplete.

3.3 - Isolamento e Síntese da Xantoxilina

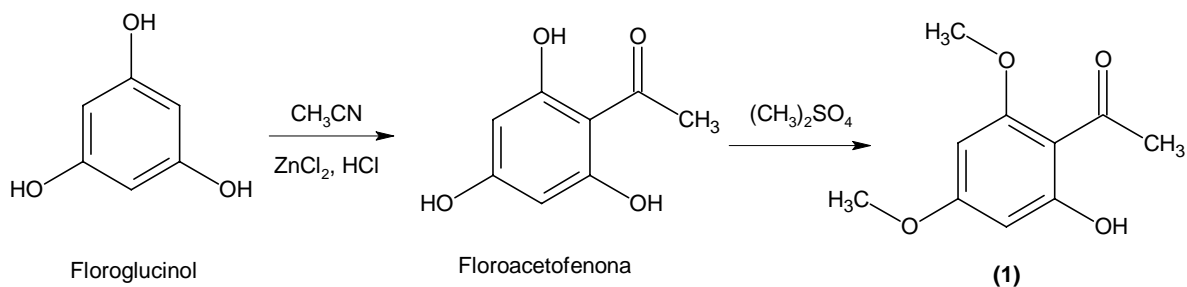
A xantoxilina (**1**) foi isolada utilizando-se técnicas de cromatografia em coluna, sendo monitorada sua pureza por cromatografia em camada delgada.

As partes aéreas de *Sebastiania schottiana* (Euphorbiaceae) foram coletadas no município de Apiúna-SC, sendo estas moídas e submetidas à dessecação em estufa sob 40°C . O material foi pesado e macerado com metanol comercial durante 15 dias. A obtenção do extrato metanólico bruto se deu através da concentração a 1/3 do seu volume. Este extrato foi particionado sucessivamente com hexano para a obtenção do extrato hexânico, o qual foi cromatografado em coluna de sílica gel eluída com hexano 100%. As primeiras frações foram desprezadas até a detecção da xantoxilina, sendo a mesma recristalizada com hexano, com aproximadamente 0,25% de rendimento.

A síntese da xantoxilina é mostrada no Esquema 2, onde inicialmente foi pesado 10 g. de floroglucinol, seco em estufa à 100°C durante 12 horas, e adicionado 20 mL de acetonitrila anidra em 70 mL de éter seco com sódio e 3 g. de cloreto de zinco fundido, finamente pulverizado, em um balão de 250 mL, equipado com um tubo largo de desprendimento de gás e um tubo de segurança de cloreto de cálcio, presos por meio de uma rolha de borracha com 2 furos. O balão foi resfriado em uma mistura de gelo e sal e foi borbulhado uma corrente de gás clorídrico seco através desta solução durante 2 h., com agitação ocasional. O balão foi deixado em repouso em freezer durante 24 horas, e

após foi novamente passada uma nova corrente de gás clorídrico por mais 2 h. Novamente foi deixado em repouso no freezer por mais 3 dias. Formuou-se um precipitado amarelo-alaranjado do cloridrato de cetimida. O éter foi decantado e o sólido foi lavado com 2 porções de 25 mL de éter anidro. Com auxílio de 500 mL de água quente o sólido foi transferido para um balão de 1 L equipado com um condensador de refluxo. Esta solução foi fervida por 2 h., foi deixada esfriar e adicionado 3 g. de carvão ativo, sendo fervida por mais 5 min. e posteriormente filtrada em funil de Buchner previamente aquecido. O carvão ativo foi extraído com 2 porções de 50 mL de água fervente e foi adicionado ao produto principal. Foi deixado em repouso durante a noite e posteriormente foi filtrado, sendo posteriormente seco em estufa à 100 °C formando agulhas amarelo-pálidas de floroacetofenona. Obteve-se 12.0 g do sólido com ponto de fusão de 217 °C [Vogel, 1989].

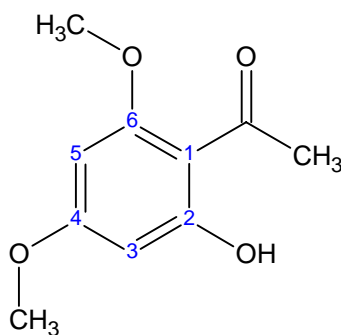
A floroacetofenona (10.0 g; 1 mol) foi solubilizada em 500 mL de acetona. Adicionou-se 80 g de carbonato de potássio anidro e agitou-se a mistura. Após, foi adicionado 12.4 mL (2.2 moles) de sulfato de dimetila e a mistura foi aquecida e mantida em refluxo por 12 h. Após o refluxo foi destilada a acetona e o resíduo foi lavado com água, onde precipitou-se um sólido transparente, o qual foi lavado posteriormente com éter. A solução etérea foi lavada com uma solução aquosa de hidróxido de sódio e acidificada com HCl 36%. Precipitou-se um sólido branco que foi cristalizado com hexano. Rend. = 85%



Esquema 2 – Síntese da Xantoxilina

p.f. = 81°C [82 °C, Dave, 1960]

Nome IUPAC: 1-(2-hidroxi-4,6-dimetoxifenil)-1-etanona



(1)

Dados espectroscópicos e espectrométricos:

- IV (KBr) cm^{-1} : 3462 (OH); 3100 (CH, axial Ar); 1618 (C=O); 1390 (CH, angular no plano).
- CG-EM (70 eV) m/z (%): 196 $[\text{M}]^+$, 181 (100) $[\text{M}^+-\text{CH}_3]$, 166 $[\text{M}^+-2\text{x CH}_3]$
- RMN ^1H (CDCl_3 , 200 MHz) ppm: 14.03 (s, 1H, OH); 6.05* (d, CH-5, $J=2.32$ Hz); 5.92* (d, CH-3, $J=2.22$ Hz); 3.85* (s, 3H, 6- OCH_3); 3.82* (s, 3H, 4- OCH_3); 2.61 (s, 3H, CH_3).
- RMN ^{13}C (CDCl_3 , 50 MHz) ppm: 203.8 (C=O); 168.2* (Cq-4); 166.7* (Cq-6); 163.6* (Cq-2); 106.6* (Cq-1); 94.1* (CH-5); 91.4* (CH-3); 56.2 (2x OCH_3); 33.5 (CH_3).

* os valores podem ser interconvertíveis

3.4 - Modificações Estruturais na Xantoxilina e seus Análogos

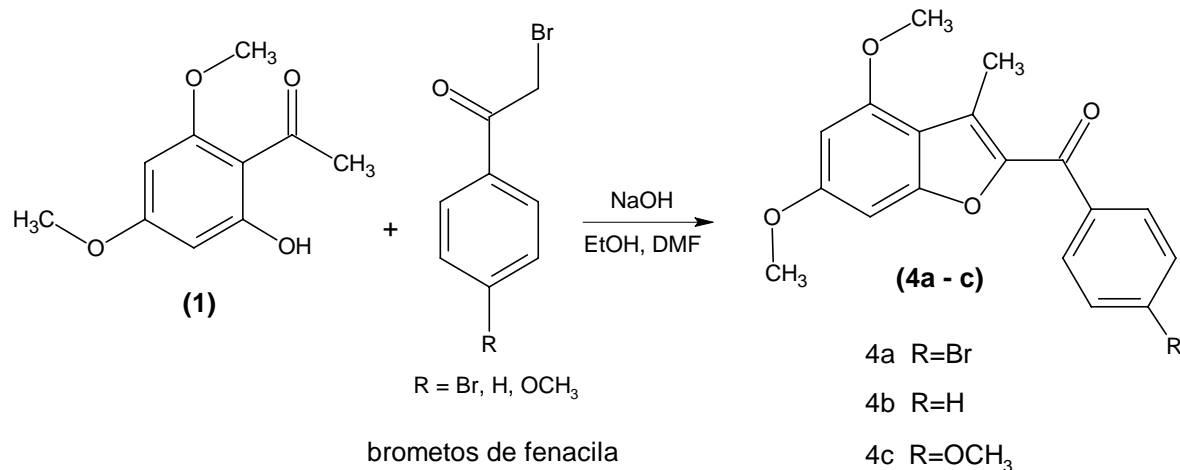
3.4.1 - Reações com Brometos de Fenacila

Procedimento Experimental Geral

Para a preparação dos derivados da xantoxilina da série **(4a-c, 5, 6)** foram empregados procedimentos similares aos descritos anteriormente na literatura [Vogel, 1989; Shriner et al, 1983], com algumas modificações necessárias.

Inicialmente solubilizou-se 0.05g de NaOH em 5 mL de álcool (metílico ou etílico) em banho-maria. Após, adicionou-se 15 mL de DMF e a seguir 1.0 mmol (0.2 g) de xantoxilina e agitou-se a mistura até a solubilização completa dos reagentes. Após, foi adicionado 1.3 mmol (30% excesso) do brometo de fenacila correspondente e a mistura foi aquecida e mantida sob refluxo por um período entre 1:30 a 3.0 h., de acordo com o brometo empregado. Após, deixou-se a mistura resfriar e a mesma foi vertida em 100 mL de água e gelo picado, sendo posteriormente deixada por 24.0 h. na geladeira. Após a filtração, o precipitado foi recristalizado com etanol.

O Esquema 3 apresenta a reação da xantoxilina **(1)** com brometos de fenacila formando os respectivos derivados benzofurânicos **(4a-c)** que serão identificados a seguir



Esquema 3 – Síntese dos Derivados Benzofurânicos

3.4.1.1 – Derivado (4a)

Síntese: Vide Procedimento Experimental Geral

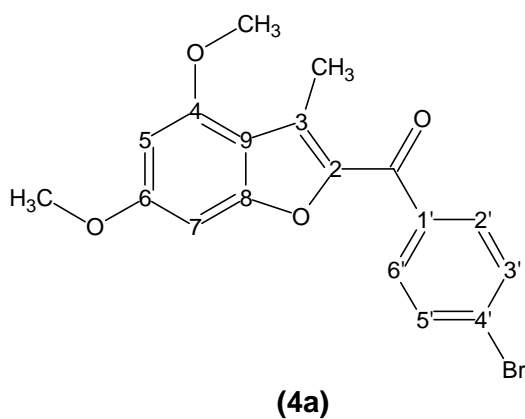
Reagente: Brometo de p-Bromofenacila (PM=277.9 g/mol)

Tempo de reação: 1:30 h.

Rend.= 47,5 %

p.f. = 185°C [185 °C, Cechinel Filho, 1996b]

Nome IUPAC: 4,6-dimetoxi-3-metilbenzo[*b*]furan-2-il-4-bromofenilmetanona



Dados espectroscópicos e espectrométricos:

- CG-EM (70 eV) m/z (%): 374-376 (100) [M]⁺, 360 [M⁺-CH₃], 294 [M⁺-Br], 280 [M⁺-CH₃]
- RMN ¹H (CDCl₃, 200 MHz) ppm: 7.91 (d, CH-3' e 5', J=8.50 Hz); 7.63 (d, CH-2' e 6', J=8.53 Hz); 6.55* (d, CH-7, J=1.8 Hz); 6.28* (d, CH-5, J=1.8 Hz); 3.89* (s, 3H, 4-OCH₃); 3.85* (s, 3H, 6-OCH₃); 2.75 (s, 3H, CH₃).

- RMN ^{13}C (CDCl_3 , 50 MHz) ppm: 184.3 (C=O); 163.2* (Cq-6); 157.7* (Cq-4); 157.5 (Cq-8); 147.4 (Cq-2); 137.8 (Cq-1'); 132.1 (CH-2'e 6'); 131.8 (CH-3'e 5'); 130.4 (Cq-4'); 127.7* (Cq-3); 113.9* (Cq-9); 95.6* (CH-7); 88.2* (CH-5); 56.4* (6-OCH₃); 56.2* (4-OCH₃); 12.6 (CH₃).

* os valores podem ser interconvertíveis

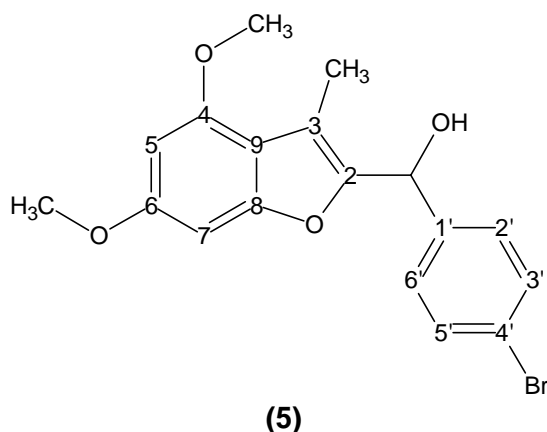
3.4.1.2 – Derivado (5)

Síntese: (0.25 g.; 0.133 mmol) de **(4a)** foram adicionadas a uma suspensão constituída por 0,0125 g de boridreto de sódio (0.033 mmol, relação 4:1) em 15 mL de álcool isopropílico, sendo colocados sob refluxo por 30 minutos a 80°C. Ao final do refluxo a mistura foi resfriada e adicionada 5 mL da solução de NaOH à 10%, após a mesma foi vertida em água e gelo picado, sendo posteriormente deixada por 24.0 h. na geladeira. Após filtração, o precipitado foi recristalizado com álcool isopropílico.

Rend. = 23 %

p.f. = 162 °C

Nome IUPAC: 4,6-dimetoxi-3-metilbenzo[*b*]furan-2-il-4-bromofenilmetanol



Dados espectroscópicos e espectrométricos:

- IV(KBr)cm⁻¹: 3292 (OH); 3020 (CH, axial Ar); 2962-2932 (CH-O, axial alif); 1068-1040 (C-O).
- CG-EM (70 eV) m/z (%): 376-378 (100) [M]⁺, 359 [M⁺-H₂O], 296 [M⁺-Br].
- RMN ^1H (CDCl_3 , 200 MHz) ppm: 7.38 (d, CH-3'e 5', *J*=8.47 Hz); 7.23 (d, CH-2'e 6', *J*=8.40 Hz); 6.42* (d, CH-7, *J*=1.78 Hz); 6.16* (d, CH-5, *J*=1.76 Hz); 5,83 (d, 1H, CH-OH); 3.76* (s, 3H, 4-OCH₃); 3.69* (s, 3H, 6-OCH₃); 2.27 (s, 3H, CH₃).
- RMN ^{13}C (CDCl_3 , 50 MHz) ppm: 159.9* (Cq-4); 156.8* (Cq-6); 155.9 (Cq-8); 149.5 (Cq-2); 140.8 (Cq-1'); 132.2 (CH-3'e 5'); 128.7 (CH-2'e 6'); 122.2 (Cq-4'); 113.9* (Cq-3);

112.0* (Cq-9); 94.7* (CH-7); 88.7* (CH-5); 68.0 (CH-OH); 56.4* (6-OCH₃); 56.1* (4-OCH₃); 10.5 (CH₃).

* os valores podem ser interconvertíveis.

3.4.1.3 - Derivado (4b)

Síntese: Vide Procedimento Experimental Geral

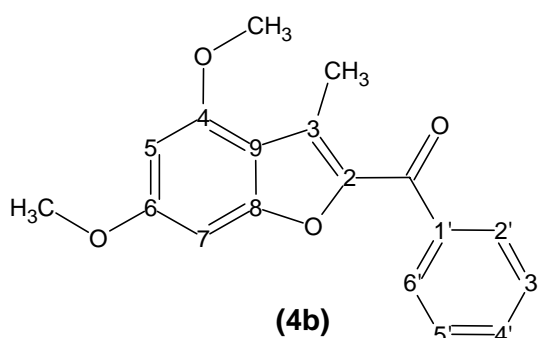
Reagente: Brometo de fenacila (PM= 198.9 g/mol)

Tempo de reação: 2.0 h.

Rend.=31%

p.f. = 116⁰C [115 ⁰C, Cechinel Filho, 1995]

Nome IUPAC: 4,6-dimetoxi-3-metilbenzo[*b*]furan-2-il-fenilmetanona



Dados espectroscópicos e espectrométricos:

- CG-EM (70 eV) m/z (%): 296 [M]⁺, 295 (100) [M⁺-H], 280 [M⁺-CH₃].

OBS: Demais dados descritos na Tese de Doutorado de Valdir Cechinel Filho [1995].

3.4.1.4 - Derivado (4c)

Síntese: Vide Procedimento Experimental Geral

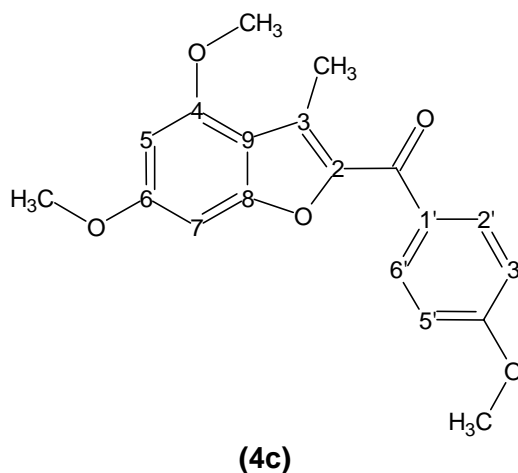
Reagente: Brometo de p-metoxi-fenacila (PM=230.9 g/mol.)

Tempo de reação: 2.0 h.

Rend.=30%

p.f. = 111⁰C [111 ⁰C, Cechinel Filho, 1995]

Nome IUPAC: 4,6-dimetoxi-3-metilbenzo[*b*]furan-2-il-4-metoxifenilmetanona



Dados espectroscópicos e espectrométricos:

- CG-EM (70 eV) m/z (%): 326 [M]⁺, 325 (100) [M⁺-H], 310 [M⁺-CH₃], 295 [M⁺-CH₃].
- OBS: Demais dados descritos na Tese de Doutorado de Valdir Cechinel Filho [1995].

3.4.1.5 - Derivado (6)

Síntese: Vide Procedimento Experimental Geral

Reagentes: 2-Hidroxi-6-metoxi-acetofenona (PM= 166.15 g/mol)

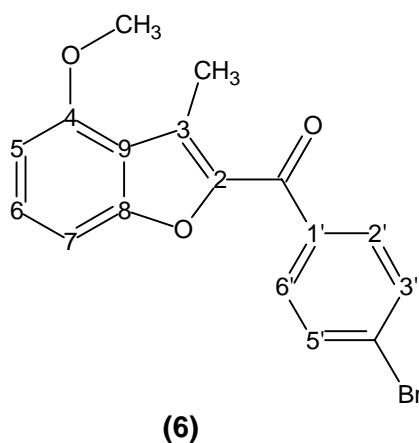
Brometo de 4-bromo-fenacila (PM= 277.9 g/mol)

Tempo de reação: 3.0 h.

Rend.=40%

p.f. = 118⁰C

Nome IUPAC: 4-metoxi-3-metilbenzo[*b*]furan-2-il-4-bromofenilmetanona



Dados espectroscópicos e espectrométricos:

- CG-EM (70 eV) m/z (%): 344-346 [M]⁺, 265 (100) [M⁺-Br], 250 [M⁺-CH₃].

- RMN ^1H (CDCl_3 , 200 MHz) ppm: 7.96 (d, CH-3'e 5', $J=8.41$ Hz); 7.66 (d, CH-2'e 6', $J=8.39$ Hz); 7.41 (t, CH-6, $J=8.43$ Hz); 7.11* (d, CH-5, $J=8.42$ Hz); 6.68* (d, CH-7, $J=7.98$ Hz); 3.97 (s, 3H, OCH_3); 2.83 (s, 3H, CH_3).

* os valores podem ser interconversíveis.

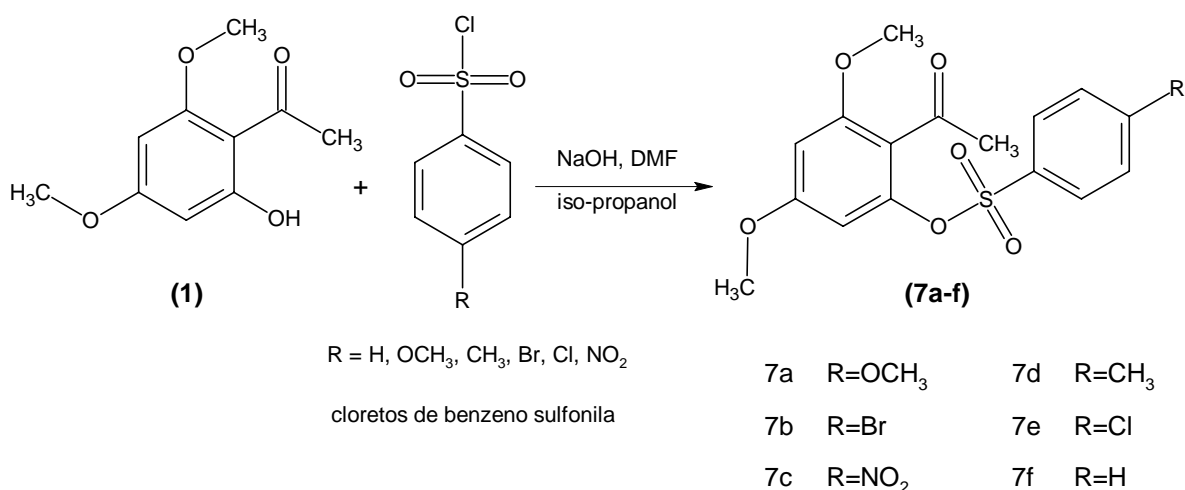
3.4.2 - Reações com Cloretos de Benzeno Sulfonila

Procedimento Experimental Geral

Para a preparação dos derivados da xantoxilina da série **(7a-f, 8, 9)** foram empregados procedimentos similares aos descritos anteriormente na literatura [Vogel, 1989], com algumas modificações necessárias.

Inicialmente solubilizou-se 0.05g de NaOH em 10 mL de álcool isopropílico em banho-maria. Após adicionou-se 15 mL de DMF e a seguir (1.0 mmol, \cong 0.2 g) de xantoxilina, agitando-se a mistura até a solubilização completa dos reagentes. Após foi adicionado 1.3 mmol (30% excesso) do cloreto de benzenossulfonila correspondente e a mistura foi aquecida e mantida sob refluxo por um período entre 1.0 a 4.0 h., de acordo com o cloreto empregado. Após, deixou-se a mistura resfriar e a mesma foi vertida em 100 mL de água e gelo picado, sendo posteriormente deixada por 24.0 h. na geladeira. Após a filtração, o precipitado foi recristalizado com álcool isopropílico.

O Esquema 4 apresenta a reação da xantoxilina **(1)** com os cloretos de benzeno sulfonila formando os respectivos derivados benzenossulfonílicos **(7a-f)**, que serão identificados a seguir.



Esquema 4 – Síntese dos Derivados Benzeno Sulfonílicos

3.4.2.1 – Derivado (7a)

Síntese: Vide Procedimento Experimental Geral

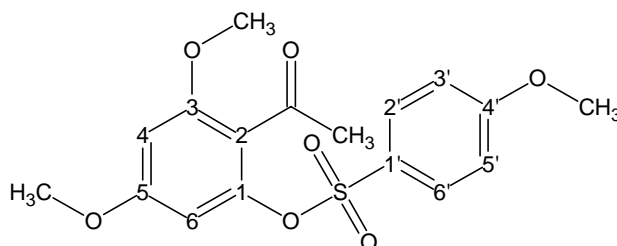
Reagente: cloreto de p-metoxi-benzenossulfonila (PM=206.5 g/mol)

Tempo de reação: 4.0 h.

Rend.= 61 %

p.f. = 162 - 163⁰C

Nome IUPAC: 2-acetil-3,5-dimetoxi-1-(4-metoxifenilsulfoniloxi) benzeno.



(7a)

Dados espectroscópicos e espectrométricos:

- IV (KBr) cm^{-1} : 3084 (CH, axial Ar); 2974-2938 (CH, axial alif); 1688 (C=O); 1612 (C-C, axial Ar); 1368 (S=O, axial assim); 1164 (S=O, axial sim); 1070-1030 (S=O, axial).
- CG-EM (70 eV) m/z (%): 366 $[\text{M}]^+$, 351 $[\text{M}^+-\text{CH}_3]$, 171 (100) $[\text{M}^+-\text{Anel Xantoxilina}]$.
- RMN ^1H (CDCl_3 , 200 MHz) ppm: 7,82 (d, CH-2'e 6', $J=8.91$ Hz); 6,99 (d, CH-3'e 5', $J=9.05$ Hz); 6,40* (d, CH-6, $J=1.96$ Hz); 6,37* (d, CH-4, $J=2.04$ Hz); 3,88 (s, 3H, 4'-OCH₃); 3,79* (s, 3H, 3-OCH₃); 3,76* (s, 3H, 5-OCH₃); 2,37 (s, 3H, CH₃).
- RMN ^{13}C (CDCl_3 , 50 MHz) ppm: 199,4 (C=O); 164,9* (Cq-5); 162,3* (Cq-1); 159,1* (Cq-3); 147,6* (Cq-4'); 131,5 (CH-2'e 6'); 127,2* (Cq-1'); 118,8* (Cq-2); 115,1 (CH-3'e 5'); 100,7* (CH-6); 98,1* (CH-4); 56,6* (5-OCH₃); 56,4* (3-OCH₃); 56,3* (4'-OCH₃); 32,7 (CH₃).

* os valores podem ser interconvertíveis.

3.4.2.2 - Derivado (7b)

Síntese: Vide Procedimento Experimental Geral

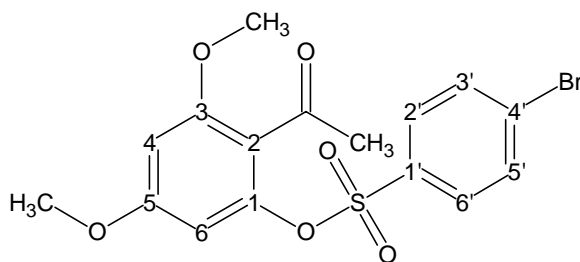
Reagente: cloreto de p-bromo-benzenossulfonila (PM=235.15 g/mol)

Tempo de reação: 1.0 h.

Rend.= 55 %

p.f. = 160 - 161⁰C

Nome IUPAC: 2-acetil-3,5-dimetoxi-1-(4-bromofenilsulfoniloxi)benzeno



(7b)

Dados espectroscópicos e espectrométricos:

- IV (KBr) cm^{-1} : 3108 (CH, axial Ar); 2974-2938 (CH, axial alif); 1688 (C=O); 1614 (C-C, axial Ar); 1370 (S=O, axial assim); 1150 (S=O, axial sim); 1070 (S=O, axial).
- CG-EM (70 eV) m/z (%): 414-416 $[\text{M}]^+$, 401 $[\text{M}^+-\text{CH}_3]$, 180 (100) $[\text{M}^+-\text{Anel Xantoxilina}]$.
- RMN ^1H (CDCl_3 , 200 MHz) ppm: 7,77 (d, CH-2' e 6', $J = 8.76$ Hz); 7,69 (d, CH-3' e 5', $J = 8.73$ Hz); 6,41* (d, CH-6, $J = 1.94$ Hz); 6,39* (d, CH-4, $J = 2.01$ Hz); 3,81* (s, 3H, 3-OCH₃); 3,79* (s, 3H, 5-OCH₃); 2,38 (s, 3H, CH₃).
- RMN ^{13}C (CDCl_3 , 50 MHz) ppm: 199,3 (C=O); 162,5* (Cq-5); 159,3* (Cq-1); 147,2* (Cq-3); 134,9* (Cq-1'); 133,2 (CH-2' e 6'); 130,7 (CH-3' e 5'); 130,5* (Cq-4'); 120,2* (Cq-2); 100,7* (CH-6); 98,3* (CH-4); 56,7* (5-OCH₃); 56,4* (3-OCH₃); 32,8 (CH₃).

* os valores podem ser interconvertíveis.

3.4.2.3 – Derivado (7c)

Síntese: Vide Procedimento Experimental Geral

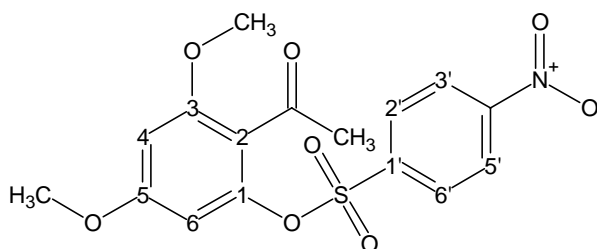
Reagente: cloreto de p-nitro-benzenossulfonila (PM=221.65 g/mol)

Tempo de reação: 4.0 h.

Rend.= 71 %

p.f. = 119 - 120°C

Nome IUPAC: 2-acetil-3,5-dimetoxi-1-(4-nitrofenilsulfoniloxi)benzeno



(7c)

Dados espectroscópicos e espectrométricos:

- IV (KBr) cm^{-1} : 3042 (CH, axial Ar); 2982-2850 (CH, axial alif); 1692 (C=O); 1608 (C-C, axial Ar); 1530 (N-O, axial assim); 1372 (S=O, axial assim); 1352 (N-O, axial sim); 1188 (S=O, axial sim); 1062 (S=O, axial).
- CG-EM (70 eV) m/z (%): 381 $[\text{M}]^+$, 366 (100) $[\text{M}^+-\text{CH}_3]$, 180 $[\text{M}^+-\text{Anel Xantoxilina}]$.
- RMN ^1H (CDCl_3 , 200 MHz) ppm: 8,39 (dd, CH-3' e 5', $J=8.94$ e 1.88 Hz); 8,11 (dd, CH-2' e 6', $J=9.0$ e 1.82 Hz); 6,49* (dd, CH-6, $J=2.24$ Hz); 6,41* (dd, CH-4, $J=2.16$ Hz); 3,86* (s, 3H, 3-OCH₃); 3,82* (s, 3H, 5-OCH₃); 2,39 (s, 3H, CH₃).
- RMN ^{13}C (CDCl_3 , 50 MHz) ppm: 199,2 (C=O); 162,7* (Cq-5); 159,5* (Cq-1); 151,7* (Cq-3); 147,0* (Cq-1'); 141,4* (Cq-4'); 130,7 (CH-2' e 6'); 124,9 (CH-3' e 5'); 118,0* (Cq-2); 100,8* (CH-6); 98,4* (CH-4); 56,7* (5-OCH₃); 56,5* (3-OCH₃); 32,8 (CH₃).

* os valores podem ser interconversíveis.

3.4.2.4 – Derivado (7d)

Síntese: Vide Procedimento Experimental Geral, com exceção de que o produto foi obtido pela extração com CHCl_3 . Após secagem com MgSO_4 anidro, a solução orgânica foi deixada à temperatura ambiente por 3 dias precipitando 0,16 g do produto puro.

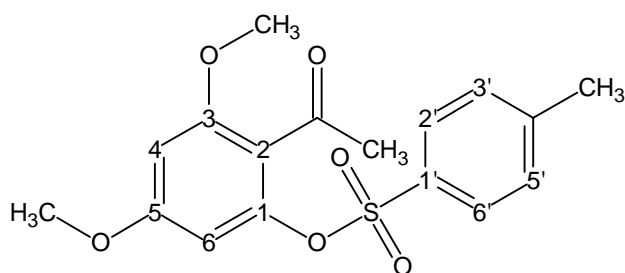
Reagente: cloreto de p-metil-benzenossulfonila (PM=190.65 g/mol)

Tempo de reação: 4.0 h.

Rend. = 45 %

p.f. = 150 - 151 $^{\circ}\text{C}$ [150 $^{\circ}\text{C}$, Cechinel Filho, 1995b]

Nome IUPAC: 2-acetil-3,5-dimetoxi-1-(4-metilfenilsulfonilo)benzeno



(7d)

Dados espectroscópicos e espectrométricos:

- IV (KBr) cm^{-1} : 2950-2850 (CH, axial alif); 1689 (C=O); 1614 (C-C, axial Ar); 1368 (S=O, axial assim); 1172 (S=O, axial sim); 1070 (S=O, axial).
- CG-EM (70 eV) m/z (%): 350 $[\text{M}]^+$, 335 (100) $[\text{M}^+-\text{CH}_3]$, 180 $[\text{M}^+-\text{Anel Xantoxilina}]$.
- RMN ^1H (CDCl_3 , 200 MHz) ppm: 7,76 (d, CH-2' e 6', $J=8.16$ Hz); 7,34 (d, CH-3' e 5', $J=8.12$ Hz); 6,37 (s, CH-4 e 6); 3,79* (s, 3H, 3-OCH₃); 3,76* (s, 3H, 5-OCH₃); 2,44 (s, 3H, CH₃); 2,35 (s, 3H, 4'-CH₃).

- RMN ^{13}C (CDCl_3 , 50 MHz) ppm: 198,7 (C=O); 161,6* (Cq-5); 158,4* (Cq-1); 146,8* (Cq-3); 145,6* (Cq-1'); 132,2* (Cq-4'); 129,7 (CH-2' e 6'); 128,5 (CH-3' e 5'); 118,5* (Cq-2); 99,9* (CH-6); 97,4* (CH-4); 55,9* (5-OCH₃); 55,6* (3-OCH₃); 31,9 (CH₃); 21,6 (4'-CH₃).

* os valores podem ser interconversíveis.

3.4.2.5 – Derivado (7e)

Síntese: Vide Procedimento Experimental Geral

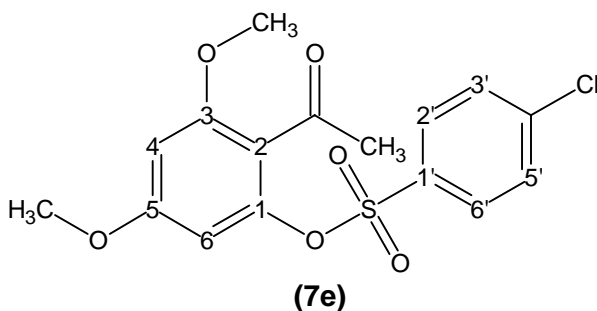
Reagente: cloreto de p-cloro-benzenossulfonila (PM=211.15 g/mol)

Tempo de reação: 3:30 h.

Rend.= 38 %

p.f. = 138 - 139°C

Nome IUPAC: 2-acetil-3,5-dimetoxi-1-(4-clorofenilsulfonilo)benzeno



Dados espectroscópicos e espectrométricos:

- CG-EM (70 eV) m/z (%): 370 [M]⁺, 355 (100) [M⁺-CH₃], 180 [M⁺-Anel Xantoxilina].
- RMN ^1H (CDCl_3 , 200 MHz) ppm: 7,82 (d, CH-2' e 6'); 7,56 (d, CH-3' e 5'); 6,37 (d, CH-4 e 6); 3,80* (s, 3H, 3-OCH₃); 3,78* (s, 3H, 5-OCH₃); 2,38 (s, 3H, CH₃).
- RMN ^{13}C (CDCl_3 , 50 MHz) ppm: 198,6 (C=O); 161,8* (Cq-5); 158,6* (Cq-1); 146,6* (Cq-3); 141,2* (Cq-1'); 133,7* (Cq-4'); 130,0 (CH-2' e 6'); 129,5 (CH-3' e 5'); 118,3* (Cq-2); 100,0* (CH-6); 97,6* (CH-4); 55,9* (5-OCH₃); 55,7* (3-OCH₃); 32,9 (CH₃).

* os valores podem ser interconversíveis.

3.4.2.6 – Derivado (7f)

Síntese: Vide Procedimento Experimental Geral

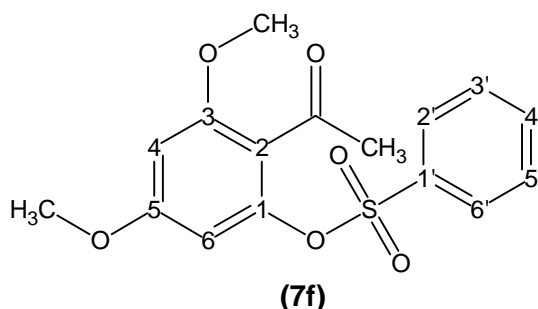
Reagente: cloreto de benzenossulfonila (PM=176.65 g/mol)

Tempo de reação: 3.0 h.

Rend.= 67 %

p.f.= 89 - 90°C

Nome IUPAC: 2-acetil-3,5-dimetoxi-1-fenilsulfoniloxibenzeno



Dados espectroscópicos e espectrométricos:

- IV (KBr) cm^{-1} : 3010 (CH, axial Ar); 2972 (CH, axial alif); 1688 (C=O); 1614 (C-C, axial Ar); 1350 (S=O, axial assim); 1178 (S=O, axial sim); 1072 (S=O, axial).
- CG-EM (70 eV) m/z (%): 336 $[\text{M}]^+$, 321 (100) $[\text{M}^+-\text{CH}_3]$, 180 [M-Anel Xantoxilina].
- RMN ^1H (CDCl_3 , 200 MHz) ppm: 7,92 (d, CH-2' e 6'); 7,75 (t, CH-3' e 5'); 7,60 (t, CH-4'); 6,39 (s, CH-4 e 6); 3,81* (s, 3H, 3-OCH₃); 3,78* (s, 3H, 5-OCH₃); 2,38 (s, 3H, CH₃).
- RMN ^{13}C (CDCl_3 , 50 MHz) ppm: 198,6 (C=O); 161,7* (Cq-5); 158,5* (Cq-1); 146,8* (Cq-3); 135,3* (Cq-1'); 134,4 (CH-4'); 129,2 (CH-3' e 5'); 128,5 (CH-2' e 6'); 118,6* (Cq-2); 100,0* (CH-6); 97,6* (CH-4); 55,9* (5-OCH₃); 55,6* (3-OCH₃); 32,0 (CH₃).

* os valores podem ser interconvertíveis.

3.4.2.7 – Derivado (8)

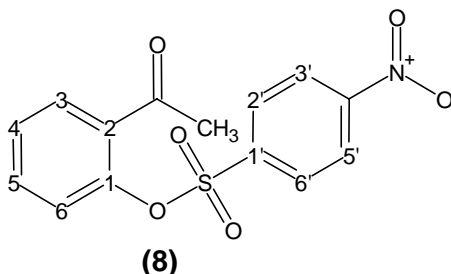
Síntese: Vide Procedimento Experimental Geral, com exceção conforme descrito na síntese do derivado **(7d)**

Reagentes: 2-hidroxi-acetofenona (PM= 136.0 g/mol)
cloreto de p-nitro-benzenossulfonila (PM=221.65 g/mol).

Tempo de reação: 1.0 h.

Rend.= 25 %; p.f. = 109 - 111°C

Nome IUPAC: 2-acetil-1-(4-nitrofenilsulfoniloxi)benzeno



Dados espectroscópicos e espectrométricos:

- IV (KBr) cm^{-1} : 3106 (CH, axial Ar); 1696 (C=O); 1604 (C-C, axial Ar); 1530 (N-O, axial assim); 1382 (N-O, axial sim); 1350 (S=O, axial assim); 1160 (S=O, axial sim); 1068 (S=O, axial).

- CG-EM (70 eV) m/z (%): 321 [M]⁺, 306 (100) [M⁺-CH₃], 186 [M⁺-Anel Acetofenona].
- RMN ¹H (CDCl₃, 200 MHz) ppm: 8,39 (dd, CH-3' e 5', J=8.74 e 1.78 Hz); 8,07 (dd, CH-2' e 6', J=8.76 e 1.77 Hz); 7,67* (dd, CH-3, J=9.31 e 1.91 Hz); 7,45 (m, CH-4 e 5); 7,15* (dd, CH-6, J=9.01 e 1.13 Hz); 2,53 (s, 3H, CH₃).
- RMN ¹³C (CDCl₃, 50 MHz) ppm: 197,5 (C=O); 151,1* (Cq-1); 146,1* (Cq-1'); 140,6* (Cq-4'); 133,5* (Cq-2); 133,1* (CH-5); 130,3* (CH-3); 130,0 (CH-2' e 6'); 127,8* (CH-4); 124,4 (CH-3' e 5'); 123,4* (CH-6); 30,1 (CH₃).

* os valores podem ser interconvertíveis.

3.4.2.8 - Derivado (9)

Síntese: Vide Procedimento Experimental Geral, com exceção conforme descrito na síntese do derivado (7d).

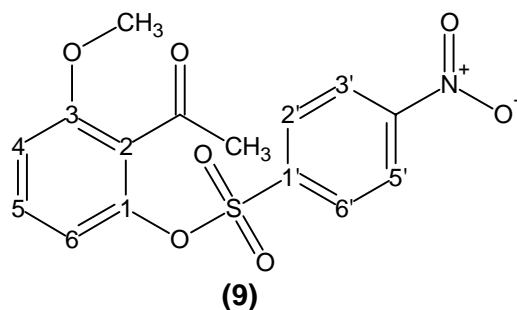
Reagentes: 2-hidroxi-6-metoxi-acetofenona (PM= 166.0 g/mol)
 cloreto de p-nitro-benzenossulfonila (PM=221.65 g/mol).

Tempo de reação: 4.0 h.

Rend.= 63 %

p.f. = 123 - 125⁰C

Nome IUPAC: 2-acetil-3-metoxi-1-(4-nitrofenilsulfoniloxi)benzeno



Dados espectroscópicos e espectrométricos:

- IV (KBr) cm⁻¹: 3010 (CH, axial Ar); 2982 (CH, axial alif); 1708 (C=O); 1606 (C-C, axial Ar); 1578 (N-O, axial assim); 1390 (S=O, axial assim); 1312 (N-O, axial sim); 1186 (S=O, axial sim); 1070 (S=O, axial).
- CG-EM (70 eV) m/z (%): 351 [M]⁺, 336 (100) [M⁺-CH₃], 186 [M⁺-Anel Acetofenona].
- RMN ¹H (CDCl₃, 200 MHz) ppm: 8,39 (d, CH-3' e 5', J=8.85 Hz); 8,07 (d, CH-2' e 6', J=8.85 Hz); 7,35 (t, CH-5); 6.91 (t, CH-4 e 6, J=9.99 Hz); 3.84 (s, 3H, 3-OCH₃); 2,44 (s, 3H, CH₃).

- RMN ^{13}C (CDCl_3 , 50 MHz) ppm: 199,3 (C=O); 157,4* (Cq-1); 151,1* (Cq-3); 145,0* (Cq-1'); 140,6* (Cq-4'); 131,1* (CH-5); 129,9 (CH-2' e 6'); 125,0* (Cq-2); 124,3 (CH-3' e 5'); 114,7* (CH-6); 110,2* (CH-4); 56,1 (3-OCH₃); 32,0 (CH₃).

* os valores podem ser interconvertíveis.

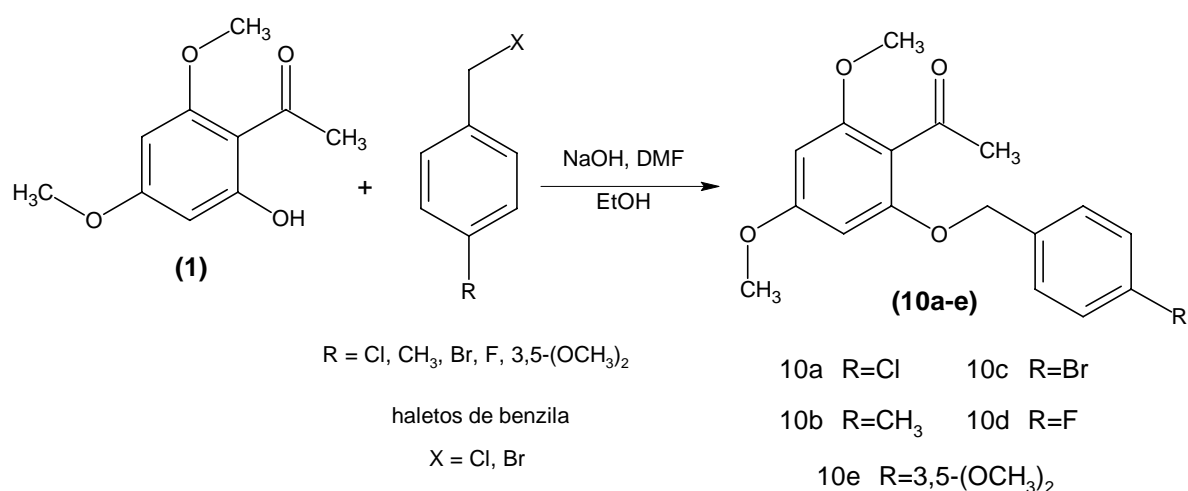
3.4.3 - Reações com Brometos/Cloretos de Benzila

Procedimento Experimental Geral

Para a preparação dos derivados da xantoxilina da série **(10a-e)** foram empregados procedimentos similares aos descritos anteriormente na literatura [Vogel, 1989], com algumas modificações necessárias.

Inicialmente, solubilizou-se 0,05g de NaOH em 10 mL de etanol em banho-maria. Após adicionou-se 15 mL de DMF e a seguir (1,0 mmol, \cong 0,2 g) de xantoxilina, agitou-se a mistura até a solubilização completa dos reagentes. Após foi adicionado 1,3 mmol (30% excesso) do brometo/cloreto de benzila correspondente e a mistura foi aquecida e mantida sob refluxo por um período entre 1,0 a 4,0 h., de acordo com o brometo/cloreto de benzila empregado. Após, deixou-se a mistura resfriar e a mesma foi vertida em 100 mL de água e gelo picado, sendo posteriormente deixada por 24,0 h. na geladeira. Após a filtração o precipitado foi recristalizado com solvente apropriado.

O Esquema 5 apresenta a reação da xantoxilina com os haletos de benzila formando os respectivos derivados benzilados **(10a-e)**, que serão identificados a seguir.



Esquema 5 – Síntese dos Derivados Benzilados

3.4.3.1 – Derivado (10a)

Síntese: Vide Procedimento Experimental Geral

Reagente: cloreto de p-clorobenzila (PM= 161,03 g/mol).

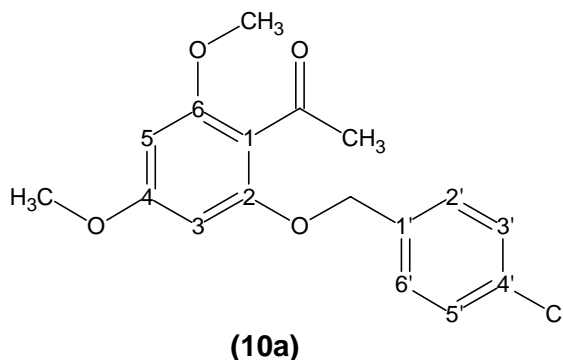
Tempo de reação: 3.0 h.

Solvente para recristalização: hexano/etanol (80:20, v/v)

Rend.= 52%

p.f. = 87 - 89°C [89 °C, Cechinel Filho, 1993]

Nome IUPAC: 1-[2-(4-clorobenziloxi)-4,6-dimetoxifenil]-1-etanona



Dados espectroscópicos e espectrométricos:

- IV (KBr) cm^{-1} : 2973-2941 (CH, axial alif); 1695 (C=O); 1605 (C-C, axial Ar).
- CG-EM (70 eV) m/z (%): 320 $[\text{M}]^+$, 305 $[\text{M}-\text{CH}_3]^+$, 125 (100) $[\text{M}^+-\text{Anel Xantoxilina}]$
- RMN ^1H (CDCl_3 , 200 MHz) ppm: 7.32 (s, CH-2', 3', 5' e 6'); 6.11 (s, CH-3 e 5); 5.02 (s, CH_2); 3.85* (s, 3H, 6- OCH_3); 3.79* (s, 3H, 4- OCH_3); 2,46 (s, 3H, CH_3).
- RMN ^{13}C (CDCl_3 , 50 MHz) ppm: 202.3 (C=O); 162.9* (Cq-2); 159.0* (Cq-6); 157.7* (Cq-4); 135.7* (Cq-1'); 134.4* (Cq-4'); 129.5 (CH-2' e 6'); 129.1 (CH-3' e 5'); 114.9* (Cq-1); 92.8* (CH-3); 91.8* (CH-5); 70.5 (CH_2); 56.5* (6- OCH_3); 56.1* (4- OCH_3); 33.3 (CH_3).

* os valores podem ser interconvertíveis.

3.4.3.2 – Derivado (10b)

Síntese: Vide Procedimento Experimental Geral

Reagente: brometo de p-metilbenzila (PM= 185.07 g/mol).

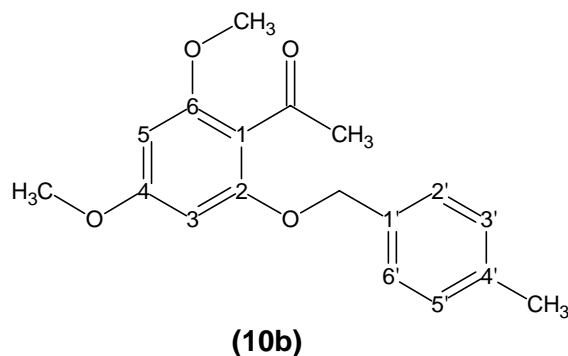
Tempo de reação: 3.0 h.

Solvente para recristalização: hexano

Rend.= 71%

p.f. = 84 - 85°C [84 °C, Cechinel Filho, 1993]

Nome IUPAC: 1-[2-(4-metilbenziloxi)-4,6-dimetoxifenil]-1-etanona



Dados espectroscópicos e espectrométricos:

- CG-EM (70 eV) m/z (%): 300 [M]⁺, 285 [M-CH₃]⁺, 258 [M⁺-CH₂=CO], 105 (100) [M⁺-Anel Xantoxilina]⁺

OBS: Demais dados descritos na referência [Cechinel Filho, 1993].

3.4.3.3 – Derivado (10c)

Síntese: Vide Procedimento Experimental Geral

Reagente: brometo de p-bromobenzila (PM= 250 g/mol).

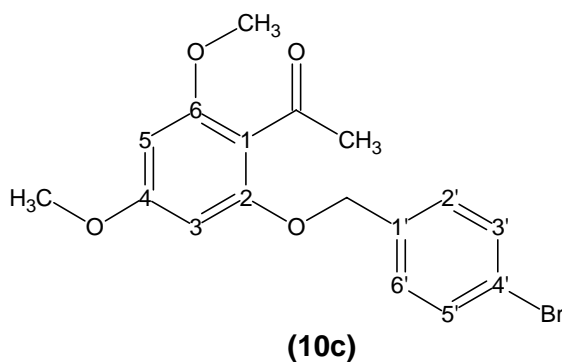
Tempo de reação: 3.0 h.

Solvente para recristalização: hexano/etanol (80:20, v/v)

Rend.= 78%

p.f. = 59 - 61^oC [59^oC, Cechinel Filho, 1995]

Nome IUPAC: 1-[2-(4-bromobenziloxy)-4,6-dimetoxifenil]-1-etanona



Dados espectroscópicos e espectrométricos:

- IV (KBr) cm⁻¹: 2973-2939 (CH, axial alif); 1694 (C=O); 1607 (C-C, axial Ar).
- CG-EM (70 eV) m/z (%): 363-365 [M]⁺, 349 [M⁺-CH₃], 169 (100) [M⁺-Anel Xantoxilina]⁺

OBS: Demais dados descritos na Tese de Doutorado de Valdir Cechinel Filho [1995].

3.4.3.4 – Derivado (10d)

Síntese: Vide Procedimento Experimental Geral, com exceção de que o produto foi obtido pela extração com éter etílico. Após secagem com MgSO_4 anidro, a solução orgânica foi evaporada e o produto foi recristalizado com hexano para a obtenção do produto puro.

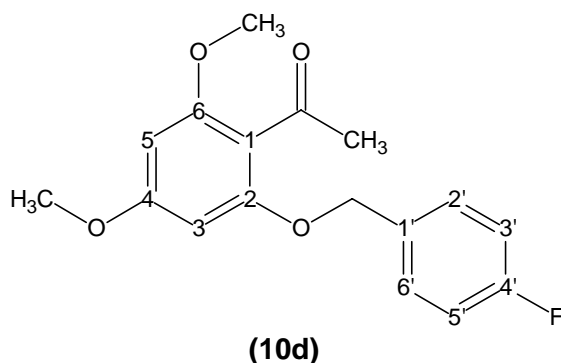
Reagente: brometo de p-fluorbenzila (PM= 189 g/mol).

Tempo de reação: 6.0 h.

Rend.= 35%

p.f. = 57 - 59°C [58 °C, Cechinel Filho, 1993]

Nome IUPAC: 1-[2-(4-fluorbenziloxy)-4,6-dimetoxifenil]-1-etanona



Dados espectroscópicos e espectrométricos:

- IV (KBr) cm^{-1} : 3068 (CH, axial Ar); 2999 (CH, axial alif); 1696 (C=O); 1606 (C-C, axial Ar).
- CG-EM (70 eV) m/z (%): 304 $[\text{M}]^+$, 289 $[\text{M}^+ - \text{CH}_3]$, 261 $[\text{M}^+ - \text{CO}]$, 109 (100) $[\text{M}^+ - \text{Anel Xantoxilina}]$.

OBS: Demais dados descritos na referência [Cechinel Filho, 1993].

3.4.3.5 – Derivado (10e)

Síntese: Vide Procedimento Experimental Geral, com exceção de que o produto foi obtido pela extração com éter etílico. Após secagem com MgSO_4 anidro, a solução orgânica foi evaporada e o produto foi recristalizado com hexano para a obtenção do produto puro.

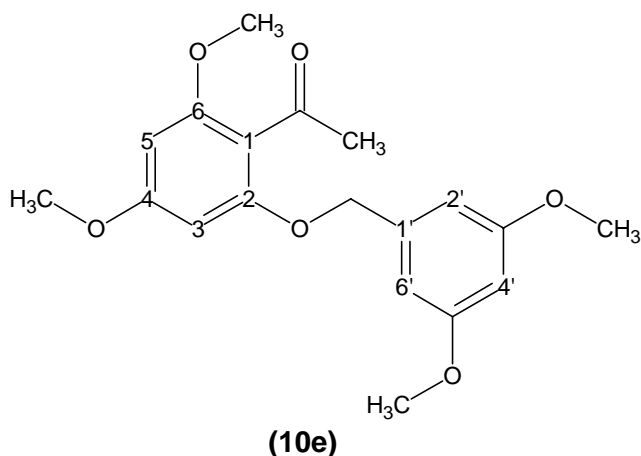
Reagentes: cloreto de 3,5-dimetoxibenzila (PM= 186.64 g/mol).

Tempo de reação: 3.0 h.

Rend.=45%

p.f. = 59 - 61°C

Nome IUPAC 1-[2-(3,5-dimetoxibenziloxi)-4,6-dimetoxifenil]-1-ethanona.



Dados espectroscópicos e espectrométricos:

- IV (KBr) cm^{-1} : 3001 (CH, axial Ar); 2942-2841 (CH, axial alif); 1695 (C=O); 1606 (C-C, axial Ar).
- CG-EM (70 eV) m/z (%): 346 $[\text{M}]^+$, 331 $[\text{M}^+-\text{CH}_3]$, 315 $[\text{M}^+-\text{OCH}_3]$, 151 (100) $[\text{M}^+-\text{Anel Xantoxilina}]$.
- RMN ^1H (CDCl_3 , 200 MHz) ppm: 6.54 (s, CH-2' e 6'); 6.38 (s, CH-4'); 6.12 (s, CH-3 e 5); 4.99 (s, CH_2); 3.77 (s, 12H, 4,6,3' e 5'- OCH_3); 2,48 (s, 3H, CH_3).
- RMN ^{13}C (CDCl_3 , 50 MHz) ppm: 202.2 (C=O); 162.8* (Cq-2); 161.5 (Cq-3'e 5'); 158.8* (Cq-6); 157.8* (Cq-4); 139.5* (Cq-1'); 114.8 (Cq-1); 105.3 (CH-2' e 6'); 100.1* (Cq-4'); 92.6* (CH-3); 91.6* (CH-5); 70.9 (CH_2); 56.4* (4 e 6- OCH_3); 55.9* (3' e 5'- OCH_3); 33.2 (CH_3). * os valores podem ser interconvertíveis.

3.5 - Síntese das Xantonas

A síntese das xantonas foi realizada em 2 etapas através de procedimentos similares aos descritos anteriormente na literatura. O primeiro foi feito pela formação dos intermediários chamados de difenil-éteres (DFE), que foram preparados via reações de Ullmann, com algumas modificações necessárias. Já para obter a xantona desejada, a partir dos difenil-éteres foram feitas reações de acilação Friedel-Crafts intramoleculares [Pickert et al, 1998a].

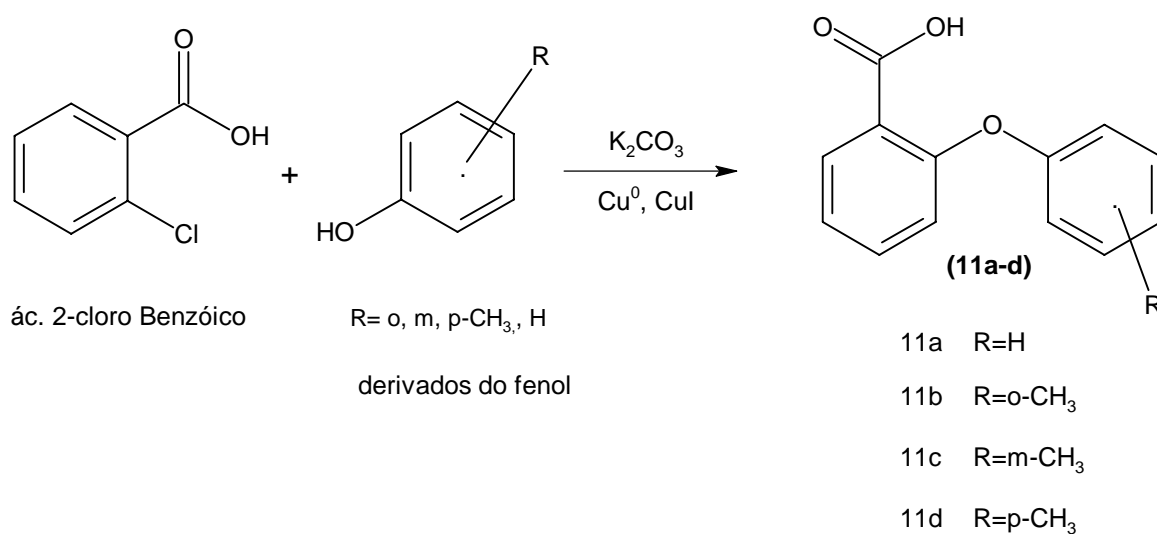
Outra rota para a preparação de xantonas é a partir de benzofenonas através de reações de acilação Friedel-Crafts [Lin et al, 1992, 1993], e que posteriormente são refluxadas com hidróxido de tetrametilamônio em piridina formando xantonas metoxiladas, e posteriormente desmetiladas com HI formando xantonas hidroxiladas, conforme descrito na literatura [Lin et al, 1996a].

3.5.1 - Síntese dos Intermediários Difenil-Éteres (DFE)

Procedimento Experimental Geral

Inicialmente foram misturados, num balão de 100 mL, ácido 2-cloro-benzóico (0.02 mol, \cong 3.13 g); cobre metálico, Cu^0 (0.02 g); iodeto de cobre, CuI (0.02 g) e carbonato de potássio anidro, K_2CO_3 (0.02 mol \cong 2.76 g). Após homogenização dos sólidos, foi adicionado 0.04 mol (200% de excesso) do fenol de interesse, sendo esta mistura aquecida até 180 – 200 °C, sob sistema de refluxo por um período de 4.0 a 7.0 h. Foi acoplado ao topo do condensador um sistema de sílica e cloreto de cálcio para evitar a entrada de umidade na reação. Após o refluxo, deixou-se a mistura esfriar e adicionou-se uma solução aquosa de carbonato de sódio onde formou-se uma solução. Esta solução foi filtrada em Buchner para a retirada de sólidos (sais e óxidos), e o filtrado foi extraído com éter etílico até a retirada completa do excesso do fenol. Após, foi iniciada a neutralização com HCl 36% até acidificar a solução a $\text{pH} \cong 1.0$ e estabilizar a neutralização durante 1.0 hora em agitação. Após, esta solução aquosa foi deixada em geladeira para facilitar a precipitação durante 16.0 h. Forma-se ou um precipitado ou uma camada oleosa, sendo que o primeiro foi filtrado, e a camada oleosa é extraída com diclorometano. Deixou-se evaporar o diclorometano e o produto bruto foi recrystalizado com solvente apropriado.

O Esquema 6 apresenta a síntese dos difenil-éteres **(11a-d)**, que serão identificados a seguir.



Esquema 6- Síntese dos Difenil-Éteres

3.5.1.1 - Ácido 2-fenóxi-Benzóico (11a)

Síntese: Vide Procedimento Experimental Geral

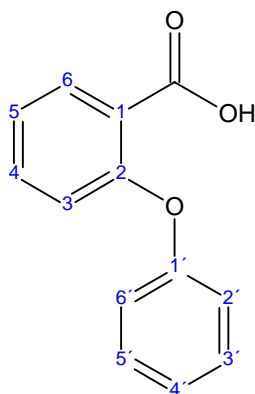
Reagentes: fenol (PM= 94.01 g/mol).

Tempo de reação: 4:30 h.

Purificação: O produto final da reação não foi solúvel a quente com éter de petróleo, sendo assim o mesmo foi purificado por coluna cromatográfica eluída com hexano e acetato de etila na proporção 50:50 (v/v) obtendo-se o produto puro.

Rend.=25%

p.f. = 110 - 112⁰C [110 - 112⁰C, Chemfinder]



(11a)

Dados espectrométricos:

- CG-EM (70 eV) m/z (%): 214 [M]⁺; 197 [M-OH]⁺; 186 [M⁺-C=O]; 169 [M⁺-COOH]; 121 (100) [M⁺-OPh].

3.5.1.2 - Ácido 2-(2-metilfenóxi)-Benzóico (11b)

Síntese: Vide Procedimento Experimental Geral

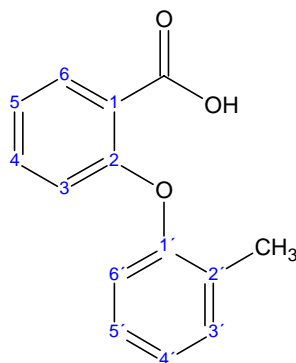
Reagente: o-cresol (PM= 108.14 g/mol).

Tempo de reação: 6.0 h.

Solvente para recristalização: isopropanol:água (25:50, v/v)

Rend.=58.6%

p.f. = 132 - 133⁰C [134⁰C, Pickert, 1998]



(11b)

Dados espectrométricos:

- CG-EM (70 eV) m/z (%): 228 $[M]^+$; 210 $[M^+-H_2O]$; 183 $[M^+-COOH]$; 121 (100) $[M^+-OPh-CH_3]$.

3.5.1.3 - Ácido 2-(3-metilfenóxi)-Benzóico (11c)

Síntese: Vide Procedimento Experimental Geral

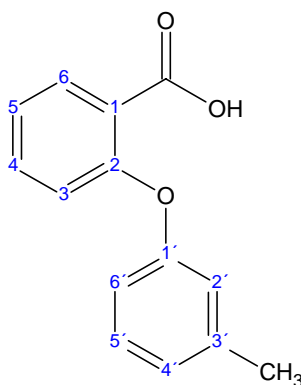
Reagente: m-cresol (PM= 108.14 g/mol).

Tempo de reação: 5.0 h.

Solvente para recristalização: éter de petróleo

Rend.=65%

p.f. = 93 - 94°C [94°C, Pickert, 1998]



(11c)

Dados espectrométricos:

- CG-EM (70 eV) m/z (%): 228 $[M]^+$, 183 $[M^+-COOH]$; 168 $[M^+-CH_3]$; 121 (100) $[M^+-OPh-CH_3]$.

3.5.1.4 - Ácido 2-(4-metilfenóxi)-Benzóico (11d)

Síntese: Vide Procedimento Experimental Geral

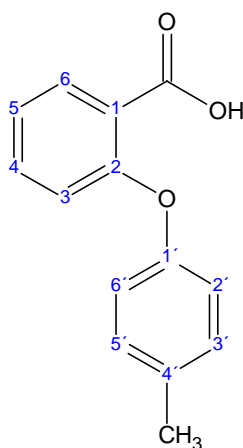
Reagente: p-cresol (PM= 108.14 g/mol).

Tempo de reação: 6.0 h.

Solvente para recristalização: etanol:água (10:50, v/v)

Rend.=70%

p.f. = 129 - 130°C [130°C, Pickert, 1998]



(11d)

Dados espectrométricos:

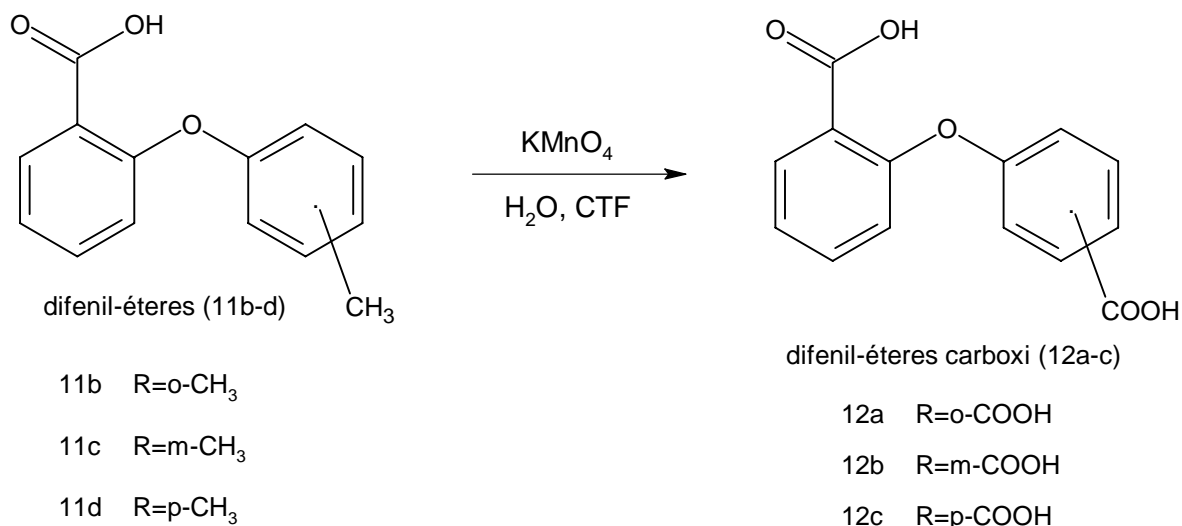
- CG-EM (70 eV) m/z (%): 228 [M]⁺; 121 (100) [M⁺-OPh-CH₃].

3.5.2 – Síntese dos Intermediários Difenil-Éteres Carboxi

Procedimento Experimental Geral

Em um balão de 250 mL foi pesado hidróxido de potássio (0.0044 mol; \cong 0.18 g) e solubilizado com 15 mL de água. Após o DFE de interesse (0.0044 mol; \cong 1.0 g) foi solubilizado em 50 mL de CHCl₃ e posteriormente adicionado ao balão juntamente com catalisador de transferência de fase (CTF- cloreto de benzil-trietil-amônio, 0.1 g; \cong 10% m/m). Também adicionou-se KMnO₄ (0.044 mol; \cong 6.95 g) a solução, e após adicionou-se água até completar 100 mL. Esta mistura foi aquecida (\cong 100 °C) sob sistema de refluxo por um período de 24.0 a 48.0 h. A reação foi acompanhada retirando-se alíquotas do sistema, neutralizando-as com HCl e verificando a existência do DFE-cresol em CG-EM. Ao final da reação a solução foi filtrada à quente em funil de Buchner para a retirada dos sólidos (óxido de manganês), sendo que a torta foi ressuspensa em água, levada a ebulição novamente e filtrada a quente. Os filtrados foram reunidos e

concentrados em rota-vapor até um volume final de 50 mL. Após, foi iniciada a neutralização com HCl 36% até acidificar a solução a $\text{pH} \cong 1.0$ e estabilizar a neutralização durante 1.0 h. em agitação. Após, esta solução aquosa foi deixada em geladeira para facilitar a precipitação durante 1 noite. Formou-se um precipitado, sendo este filtrado e seco em estufa à 54 °C por até 48 h. O Esquema 7 apresenta a síntese dos difenil-éteres carboxi (**12a–c**) que serão identificados a seguir.



Esquema 7- Síntese dos Difenil-Éteres Carboxi

3.5.2.1 - Ácido 2-(2-carboxifenóxi)-Benzóico (**12a**)

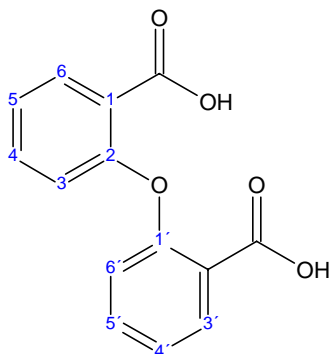
Síntese: Vide Procedimento Experimental Geral

Reagente: DFE o-cresol (PM= 228 g/mol).

Tempo de reação: 25.0 h.

Rend.=33%

p.f. = 231 - 232°C [230°C, Pickert, 1998]



(12a)

Dados espectroscópicos:

- IV (KBr) cm^{-1} : 2962 (OH, axial); 1672 (C=O); 1604 (C-C, axial Ar); 1238 (C-O, axial)

- RMN ^1H (DMSO [d_6], 200 MHz, δ) ppm : 12.82 (s, 2H, COOH); 7.84 (d, 2H-Ar, H-6 e H-3', $J=7.03$ Hz); 7.53 (dd, 2H-Ar, H-4 e H-5', $J=7.37$ e 7.16 Hz); 7,23 (t, 2H-Ar, H-5 e H-4', $J=7.41$ e 7.42 Hz); 6.85 (d, 2H-Ar, H-3 e H-6', $J=8.12$ Hz)
- RMN ^{13}C (DMSO [D_6], 50 MHz, δ) ppm: 166.5 (2x C=O); 155.7 (Cq-2 e 1'); 133.5 (CH-4 e 5'); 131.4 (CH-6 e 3'); 123.5 (Cq-1 e 2'); 123.4 (CH-5 e 4'); 119.6 (CH-3 e 6').

3.5.2.2 - Ácido 2-(3-carboxifenóxi)-Benzóico (12b)

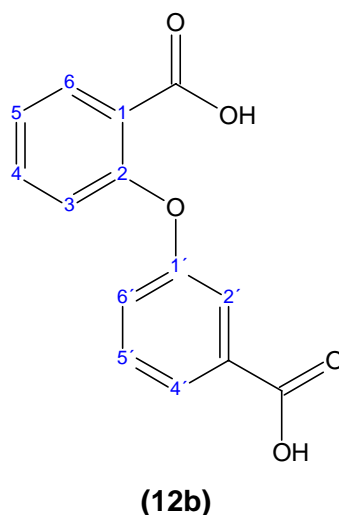
Síntese: Vide Procedimento Experimental Geral

Reagente: DFE m-cresol (PM= 228 g/mol).

Tempo de reação: 44 h.

Rend.=66%

p.f. = 220°C [221°C, Pickert, 1998]



Dados espectroscópicos:

- IV (KBr) cm^{-1} : 3070 (OH, axial); 1694 (C=O); 1598 (C-C, axial Ar); 1240 (C-O, axial)
- RMN ^1H (DMSO [d_6], 200 MHz, δ) ppm: COOH sem sinal; 7.99 (d, 1H-Ar, H-6, $J=8.33$ Hz); 7.89 (d, 1H-Ar, H-4', $J=7.06$ Hz); 7.64 (t, 1H-Ar, H-4, $J=7.67$ e 8.95 Hz); 7.48 (t, 1H-Ar, H-5', $J=7.94$ e 7.77 Hz); 7.37 (d, 1H-Ar, H-5, $J=7.52$ Hz); 7.32 (s, 1H-Ar, H-2'); 7.21 (d, 1H-Ar, H-6', $J=8.08$ Hz); 7.14 (d, 1H-Ar, H-3, $J=8.04$ Hz).
- RMN ^{13}C (DMSO [d_6], 50 MHz, δ) ppm: 166.75 (C=O, C-3'); 166.29 (C=O, C-1); 158.07 (Cq-1'); 154.04 (Cq-2); 133.85 (CH-4); 132.49 (Cq-3'); 131.59 (CH-6); 130.18 (CH-5'); 125.01 (Cq-1); 124.88 (CH-5); 123.44 (CH-4'); 122.08 (CH-3); 121.78 (CH-6'); 116.94 (CH-2').

3.5.2.3 - Ácido 2-(4-carboxifenóxi)-Benzóico (12c)

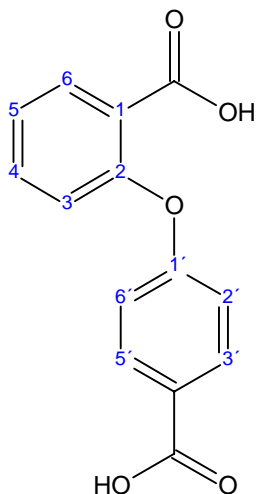
Síntese: Vide Procedimento Experimental Geral

Reagente: DFE p-cresol (PM= 228 g/mol).

Tempo de reação: 28 h.

Rend.=49%

p.f. = 220⁰C [221⁰C, Pickert, 1998]



(12c)

Dados espectroscópicos:

- IV (KBr) cm⁻¹: 2998 (OH, axial); 1674 (C=O); 1604 (C-C, axial Ar); 1248 (C-O, axial)
- RMN ¹H (DMSO [d₆], 200 MHz, δ) ppm: 12.92 (s, 2H, COOH); 7.91 (d, 1H-Ar, H-6, J=8.46 Hz); 7.66 (t, 1H-Ar, H-4, J=7.72 e 7.69 Hz); 7.57 (d, 2H-Ar, H-3' e 5', J=8.48 Hz); 7.38 (t, 1H-Ar, H-5, J=7.49 e 7.59 Hz); 7.19 (d, 1H-Ar, H-3, J=8.14 Hz); 6.91 (d, 2H-Ar, H-2' e 6', J=8.63 Hz).
- RMN ¹³C (DMSO [d₆], 50 MHz, δ) ppm: 166.81 (C=O, C-4'); 166.08 (C=O, C-1); 161.77 (Cq-1'); 153.41 (Cq-2); 134.02 (CH-4); 131.52 (CH-3' e 5'); 128.77 (CH-6); 125.35 (CH-5); 124.63 (Cq-4'); 122.68 (CH-3); 116.23 (CH-2' e 6').

3.5.3 - Síntese das Xantonas via Intermediários Difenil-Éteres (DFE)

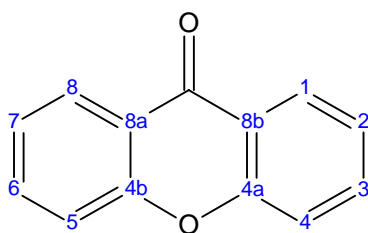
Procedimento Experimental Geral

Em um balão de 50 mL foi pesado o DFE de interesse (0.001 mol) e adicionado 15 g de ácido polifosfórico (PPA). Esta mistura foi homogenizada e aquecida (entre 120 a 180⁰C) acoplado o balão ao sistema de rotação do rota-vapor, sendo o balão aquecido num banho-maria com fluido térmico que suporta temperaturas até 220 ⁰C por

O Esquema 8 apresenta a síntese das xantonas via difenil-éteres (**13-21**), que serão identificadas a seguir.



Nome IUPAC: 9*H*-9-xantenona



(13)

Dados espectroscópicos e espectrométricos:

- IV (KBr) cm^{-1} : 3056 (CH, axial Ar); 1734 (C=O); 1606 (C-C, axial Ar); 1238 (C-O, axial)
- CG-EM (70 eV) m/z (%): 196 (100) $[\text{M}]^{+}$; 168 [M-C=O]; 139 [M-CHO]
- RMN ^1H (CDCl_3 , 200 MHz, δ) ppm: 8,34 (d, 2H-Ar, H-1 e 8, $J=7.68$ Hz); 7,72 (t, 2H-Ar, H-2 e 7, $J=7.37$); 7,49 (d, 2H-Ar, H-4 e 5, $J=8.32$ Hz); 7,37 (t, 2H-Ar, H-3 e 6, $J=7.36$ Hz)
- RMN ^{13}C (CDCl_3 , 50 MHz, δ) ppm: 177.8 (C=O); 156.8 (Cq-4a e 4b); 135.5 (CH-1 e 8); 127.4 (CH-2 e 7); 124.6 (CH-4 e 5); 122.5 (Cq-8a e 8b); 118.6 (CH-3 e 6).

3.5.3.2 - 1-metil-Xantona (14)

Síntese: Vide Procedimento Experimental Geral

Reagentes: DFE m-cresol (PM= 228 g/mol).

Tempo de reação: 2.0 h.

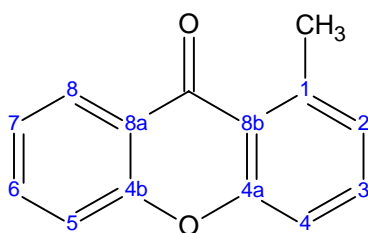
Temperatura da reação: 120 °C.

Purificação: A reação forma a 1-metil-Xantona e a 3-metil-Xantona em proporções iguais, sendo que estas foram separadas por coluna cromatográfica eluída com hexano e acetato de etila, sendo que na proporção 99:1 (%v/v) obteve-se a 1-metil-Xantona pura.

Rend.=43%

p.f. = 112 - 113°C [112°C, Pickert, 1998]

Nome IUPAC: 1-metil-9H-9-xantenona



(14)

Dados espectroscópicos e espectrométricos:

- IV (KBr) cm^{-1} : 3070 (CH, axial Ar); 2964 (CH, axial Alif); 1654 (C=O); 1598 (C-C, axial Ar); 1296 (C-O, axial)
- CG-EM (70 eV) m/z (%): 210 (100) $[\text{M}]^{+}$; 195 [M-CH₃]⁺; 181[M-CHO]⁺; 152 [M-CHO]⁺

- RMN ^1H (CDCl_3 , 200 MHz, δ) ppm: 8,25 (d, 1H-Ar, H-8, $J=7.69$ Hz); 7.65 (ddt, 1H-Ar, H-6, $J=7.36$ e 7.40 Hz); 7,50 (dd, 1H-Ar, H-3, $J=7.83$ e 7.74 Hz); 7.34 (m, 3H-Ar, H-4, 5 e 7); 7.08 (d, 1H-Ar, H-2, $J=7.09$ Hz); 2.91 (s, 3H, CH_3).
- RMN ^{13}C (CDCl_3 , 50 MHz, δ) ppm: 179.5 (C=O); 158.2 (Cq-4a); 155.9 (Cq-4b); 142.7 (Cq-1); 135.0 (CH-6); 134.3 (CH-2); 127.31 (2x CH-2 e 8); 124.3 (CH-7); 123.4 (Cq-8a); 120.9 (Cq-8b); 118.1 (CH-5); 116.6 (CH-4); 23.9 (CH_3)

3.5.3.3 - 2-metil-Xantona (15)

Síntese: Vide Procedimento Experimental Geral

Reagentes: DFE p-cresol (PM= 228 g/mol).

Tempo de reação: 2.0 h.

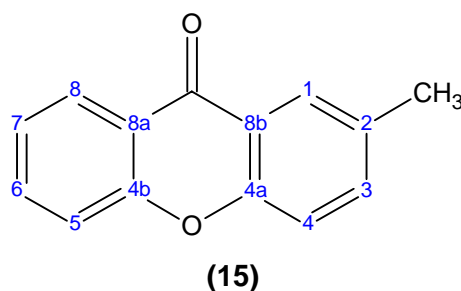
Temperatura da reação: 120 °C.

Solvente para recristalização: metanol

Rend.=51%

p.f.= 121 - 123°C [122°C, Pickert, 1998]

Nome IUPAC: 2-metil-9H-9-xantenona



Dados espectroscópicos e espectrométricos:

- IV (KBr) cm^{-1} : 3060 (CH, axial Ar); 2920 (CH, axial Alif); 1656 (C=O); 1610 (C-C, axial Ar); 1318 (C-O, axial)
- CG-EM (70 eV) m/z (%): 210 (100) $[\text{M}]^+$; 181 $[\text{M-CHO}]^+$; 152 $[\text{M-CHO}]^+$
- RMN ^1H (CDCl_3 , 200 MHz, δ) ppm: 8,32 (dd, 1H-Ar, H-8, $J=8.0$ e 1.36 Hz); 8.09 (s, 1H-Ar, H-1); 7.69 (td, 1H-Ar, H-6, $J=7.65$ e 1.5 Hz); 7,50 (d, 1H-Ar, H-3, $J=7.57$ Hz); 7,44 (d, 1H-Ar, H-5, $J=9.0$ Hz); 7.33 (m, 2H-Ar, H-4 e 7); 2.44 (s, 3H, CH_3).
- RMN ^{13}C (CDCl_3 , 50 MHz, δ) ppm: 177.9 (C=O); 156.8 (Cq-4b); 155.0 (Cq-4a); 136.7 (CH-3); 135.3 (CH-6); 134.3 (Cq-2); 127.3 (CH-8); 126.6 (CH-1); 123.0 (CH-7); 122.5 (Cq-8b); 122.1 (Cq-8a); 118.6 (CH-5); 118.4 (CH-4); 21.5 (CH_3).

3.5.3.4 - 3-metil-Xantona (16)

Síntese: Vide Procedimento Experimental Geral

Reagentes: DFE m-cresol (PM= 228 g/mol).

Tempo de reação: 2.0 h.

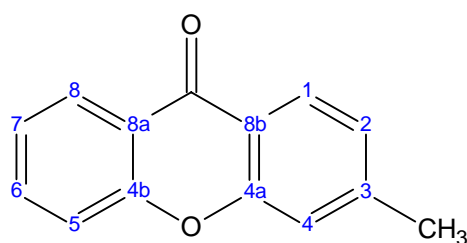
Temperatura da reação: 120 °C.

Purificação: A reação forma a 1-metil-Xantona e a 3-metil-Xantona em proporções iguais, sendo que estas foram separadas por coluna cromatográfica eluída com hexano e acetato de etila na proporção 90:10 (% , v/v) obteve-se a 3-metil-Xantona pura.

Rend.=57%

p.f.= 93 - 94°C [94°C, Pickert, 1998]

Nome IUPAC: 3-metil-9H-9-xantenona



(16)

Dados espectroscópicos e espectrométricos:

- IV (KBr) cm^{-1} : 3064 (CH, axial Ar); 2922 (CH, axial Alif); 1656 (C=O); 1606 (C-C, axial Ar); 1324 (C-O, axial)
- CG-EM (70 eV) m/z (%): 210 (100) $[\text{M}]^{+}$; 195 $[\text{M}-\text{CH}_3]^{+}$; 181 $[\text{M}-\text{CHO}]^{+}$; 152 $[\text{M}-\text{CHO}]^{+}$
- RMN ^1H (CDCl_3 , 200 MHz, δ) ppm: 8,31 (d, 1H-Ar, H-8, $J=7.7$ Hz); 8.18 (d, 1H-Ar, H-1, $J=8.03$ Hz); 7.67 (t, 1H-Ar, H-6, $J=7.38$ Hz); 7,37 (m, 2H-Ar, H-7 e 5); 7,22 (s, 1H-Ar, H-4); 7.15 (d, 1H-Ar, H-2, $J=8.03$ Hz); 2.47 (s, 3H, CH_3).
- RMN ^{13}C (CDCl_3 , 50 MHz, δ) ppm: 177.6 (C=O); 156.8 (Cq-4a); 156.7 (Cq-4b); 146.9 (Cq-3); 135.1 (CH-6); 127.2 (CH-8); 127.0 (CH-1); 126.0 (CH-2); 124.3 (CH-7); 122.5 (Cq-8a); 120.1 (Cq-8b); 118.5 (CH-5); 118.3 (CH-4); 22.5 (CH_3)

3.5.3.5 - 4-metil-Xantona (17)

Síntese: Vide Procedimento Experimental Geral

Reagentes: DFE o-cresol (PM= 228 g/mol).

Tempo de reação: 2.0 h.

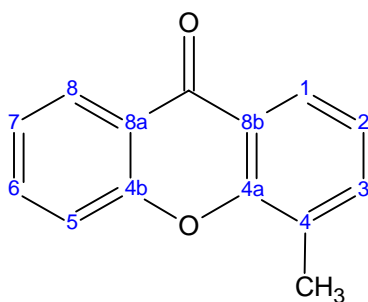
Temperatura da reação: 120 °C.

Solvente para recristalização: éter de petróleo

Rend.=95%

p.f.= 126 - 127°C [127°C, Pickert, 1998]

Nome IUPAC: 4-metil-9*H*-9-xantenona



(17)

Dados espectroscópicos e espectrométricos:

- IV (KBr) cm^{-1} : 2948 (CH, axial Alif); 1660 (C=O); 1600 (C-C, axial Ar); 1332 (C-O, axial)
- CG-EM (70 eV) m/z (%): 210 (100) $[\text{M}]^{+}$; 193 $[\text{M-OH}]^{+}$; 181 $[\text{M-CHO}]^{+}$; 152 $[\text{M-CHO}]^{+}$
- RMN ^1H (CDCl_3 , 200 MHz, δ) ppm: 8,32 (dd, 1H-Ar, H-8, $J=7.87$ e 1.01 Hz); 8.16 (d, 1H-Ar, H-1, $J=7.67$ Hz); 7.70 (dt, 1H-Ar, H-6, $J=7.00$ e 1.17 Hz); 7,51 (t, 1H-Ar, H-7, $J=6.61$ Hz); 7,29 (m, 3H-Ar, H-2, 3 e 5); 2.53 (s, 3H, CH_3).
- RMN ^{13}C (CDCl_3 , 50 MHz, δ) ppm: 178.2 (C=O); 156.7 (Cq-4b); 155.2 (Cq-4a); 136.3 (CH-3); 135.3 (CH-6); 132.1 (Cq-4); 127.8 (Cq-8b); 127.3 (CH-8); 124.9 (CH-7); 124.5 (CH-2); 122.0 (CH-1); 122.2 (Cq-8a); 118.6 (CH-5); 16.4 (CH_3)

3.5.3.6 - 1-carboxi-Xantona (18)

Síntese: Vide Procedimento Experimental Geral

Reagentes: DFE m-COOH (PM= 258 g/mol).

Tempo de reação: 5.0 h.

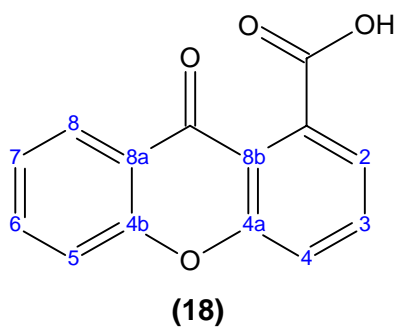
Temperatura da reação: 180 °C.

Purificação: A reação forma a 1-carboxi-Xantona e a 3-carboxi-Xantona em diferentes proporções, sendo que estas foram separadas por coluna cromatográfica eluída com acetato de etila e ácido acético, sendo que na proporção 100:1 (% v/v) obteve-se a 1-carboxi-Xantona pura.

Rend.=45%

p.f. = 225°C [227°C, Pickert, 1998]

Nome IUPAC: ácido 9-oxo-9*H*-1-xantene carboxílico



Dados espectroscópicos e espectrométricos:

- IV (KBr) cm^{-1} : 3008 (OH); 1700 (C=O); 1662 (C=O); 1598 (C-C, axial Ar); 1296 (C-O, axial).
- RMN ^1H (DMSO $[\text{d}_6]$, 200 MHz, δ) ppm: 8.19 (d, 1H-Ar, H-8, $J=7.78$ Hz); 7.92 (m, 2H-Ar, H-6 e 3); 7.71 (m, 2H-Ar, H-4 e 5); 7.49 (m, 2H-Ar, H-2 e 7).
- RMN ^{13}C (DMSO $[\text{d}_6]$, 50 MHz, δ) ppm: 175.1 (C=O'); 169.9 (COOH); 155.4 (Cq-4a); 155.1 (Cq-4b); 135.7 (CH-6); 135.4 (CH-3); 135.2 (Cq-1); 125.9 (CH-8); 124.6 (CH-7); 122.4 (CH-2); 121.1 (Cq-8a); 119.0 (CH-4); 118.0 (CH-5); 117.4 (Cq-8b)

3.5.3.7 - 2-carboxi-Xantona (19)

Síntese: Vide Procedimento Experimental Geral

Reagentes: DFE p-COOH (PM= 258 g/mol).

Tempo de reação: 5.0 h.

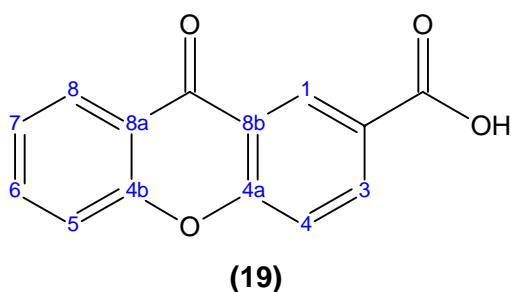
Temperatura da reação: 180 °C.

Solvente para recristalização: metanol

Rend.=49%

p.f. = 300°C [299°C, Pickert, 1998]

Nome IUPAC: ácido9-oxo-9H-2-xantene carboxílico



Dados espectroscópicos e espectrométricos:

- IV (KBr) cm^{-1} : 3070 (OH); 1702 (C=O); 1670 (C=O); 1612 (C-C, axial Ar); 1300 (C-O, axial)
- RMN ^1H (DMSO $[\text{d}_6]$, 200 MHz, δ) ppm: 8.70 (d, 1H-Ar, H-1, $J=1.89$ Hz); 8.32 (dd, 1H-Ar, H-3, $J=8.57$ e 2.07 Hz); 8.19 (d, 1H-Ar, H-8, $J=7.75$ Hz); 7.91 (t, 1H-Ar, H-6, $J=7.82$ Hz); 7.71 (t, 2H-Ar, H-4 e 5, $J=8.74$ Hz); 7.52 (t, 1H-Ar, H-7, $J=7.63$ Hz).
- RMN ^{13}C (DMSO $[\text{d}_6]$, 50 MHz, δ) ppm: 175.7 (C=O); 166.1 (COOH); 158.0 (Cq-4a); 155.5 (Cq-4b); 135.9 (CH-6); 135.5 (CH-3); 127.8 (Cq-1); 126.7 (Cq-2); 126.1 (CH-8); 124.9 (CH-7); 121.1 (Cq-8a); 120.8 (Cq-8b); 118.9 (CH-4); 118.3 (CH-5).

3.5.3.8 - 3-carboxi-Xantona (20)

Síntese: Vide Procedimento Experimental Geral

Reagentes: DFE m-COOH (PM= 258 g/mol).

Tempo de reação: 5.0 h.

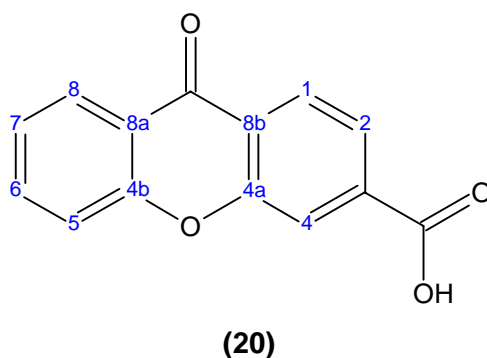
Temperatura da reação: 180 °C.

Purificação: A reação forma a 1-carboxi-Xantona e a 3-carboxi-Xantona em diferentes proporções, sendo que estas foram separadas por coluna cromatográfica eluída com acetato de etila e ácido acético, sendo que na proporção 80:20 (% v/v) obteve-se a 3-carboxi-Xantona e esta foi recristalizada com etanol.

Rend.=16%

p.f.= > 301°C [314°C, Pickert, 1998]

Nome IUPAC: ácido 9-oxo-9*H*-3-xantene carboxílico



Dados espectroscópicos e espectrométricos:

- IV (KBr) cm^{-1} : 3070 (OH); 1728 (C=O); 1638 (C=O); 1620 (C-C, axial Ar); 1244 (C-O)
- RMN ^1H (DMSO $[\text{d}_6]$, 200 MHz, δ) ppm: 8.21 (d, 1H-Ar, H-1, $J=8.19$ Hz); 8.15 (d, 1H-Ar, H-8, $J=7.87$ Hz); 8.00 (s, 1H-Ar, H-4); 7.88 (m, 2H-Ar, H-2 e 6); 7.63 (d, 1H-Ar, H-5, $J=8.38$ Hz); 7.48 (t, 1H-Ar, H-7, $J=7.46$ Hz).

- RMN ^{13}C (DMSO $[\text{d}_6]$, 50 MHz, δ) ppm: 175.6 (C=O); 165.9 (COOH); 155.6 (Cq-4b); 155.1 (Cq-4a); 136.8 (CH-6); 135.8 (Cq-3); 126.5 (CH-1); 125.9 (CH-8); 124.6 (CH-7); 124.1 (CH-2); 123.5 (Cq-8b); 121.1 (Cq-8a); 119.1 (CH-4); 118.2 (CH-5).

3.5.3.9 - 4-carboxi-Xantona (21)

Síntese: Vide Procedimento Experimental Geral

Reagentes: DFE o-COOH (PM= 258 g/mol).

Tempo de reação: 5.0 h.

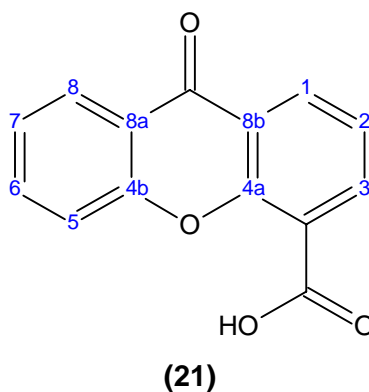
Temperatura da reação: 180 °C.

Solvente para recristalização: etanol

Rend.=47%

p.f. = 274 - 275 $^{\circ}\text{C}$ [274 $^{\circ}\text{C}$, Pickert, 1998]

Nome IUPAC: ácido 9-oxo-9*H*-4-xantene carboxílico



Dados espectroscópicos e espectrométricos:

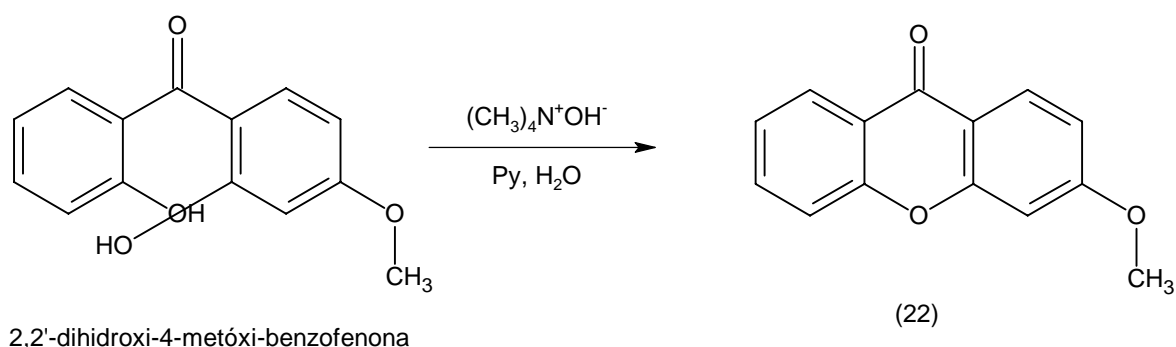
- IV (KBr) cm^{-1} : 3000 (OH); 1696 (C=O); 1668 (C=O); 1614 (C-C, axial Ar); 1282 (C-O)
- RMN ^1H (DMSO $[\text{d}_6]$, 200 MHz, δ) ppm: 8.36 (dd, 1H-Ar, H-1, $J=7.89$ e 1.58 Hz); 8.25 (dd, 1H-Ar, H-3, $J=7.59$ e 1.52 Hz); 8.17 (dd, 1H-Ar, H-8, $J=7.88$ e 0.96 Hz); 7.87 (t, 1H-Ar, H-6, $J=8.43$ Hz); 7.60 (d, 1H-Ar, H-5, $J=8.40$ Hz); 7.50 (q, 2H-Ar, H-7 e 2).
- RMN ^{13}C (DMSO $[\text{d}_6]$, 50 MHz, δ) ppm: 175.6 (C=O); 165.6 (COOH); 155.3 (Cq-4a); 153.7 (Cq-4b); 136.9 (CH-3); 135.9 (CH-6); 130.0 (CH-1); 125.9 (CH-8); 124.8 (CH-7); 123.7 (CH-2); 122.2 (Cq-8b); 121.9 (Cq-4); 120.8 (Cq-8a); 118.4 (CH-5).

3.5.4 - Síntese das Xantonas via Intermediários Benzofenona 2,2'-Substituídas

Procedimento Experimental Geral

Em um balão de 250 mL foi pesada a benzofenona de interesse (0.022 mol) e adicionado 100 mL de piridina, 2.0 g (0.022 mol) de hidróxido de tetrametilamônio (PM= 91 g/mol) e 100 mL de água. Esta mistura foi aquecida em refluxo até que toda a benzofenona reagisse formando a respectiva xantona. Após, esta solução foi vertida sob gelo, acidificada com HCl 36% e mantida em geladeira por 1.0 h. Após, formou-se um precipitado que foi filtrado em Buchner e recristalizado com solvente apropriado, sendo posteriormente seco em estufa à 54°C para obter o produto puro.

O Esquema 9 apresenta a síntese da 3-metóxi-xantona (**22**) via seu intermediário benzofenona, que será identificada a seguir.



Esquema 9- Síntese da Xantona via Benzofenona 2,2'-Substituída

3.5.4.1 - 3-metóxi-Xantona (**22**)

Síntese: Vide Procedimento Experimental Geral

Reagente: 2,2'-dihidroxi-4-metoxi-benzofenona (PM=232 g/mol)

Tempo de reação: 36.0 h.

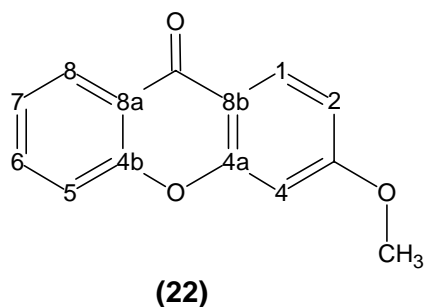
Temperatura da reação: $\approx 110^{\circ}\text{C}$

Solvente para recristalização: metanol

Rend = 95%

p.f. = $115 - 116^{\circ}\text{C}$ [116°C, Lin et al., 1993]

Nome IUPAC: 3-metóxi-9*H*-9-xantenona



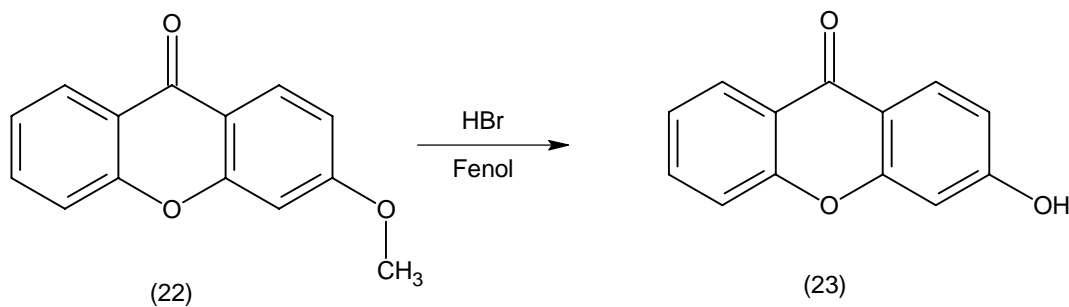
Dados espectroscópicos e espectrométricos:

- IV (KBr) cm^{-1} : 1650 (C=O); 1615 (C-C, axial Ar); 1264 (C-O); 1098 (C-O-C, axial)
- CG-EM (70 eV) m/z (%): 226 (100) $[\text{M}]^+$; 197 $[\text{M}-\text{CHO}]^+$; 168 $[\text{M}-\text{CHO}]^+$
- RMN ^1H (DMSO $[\text{d}_6]$, 200 MHz, δ) ppm: 8.17 (d, 1H-Ar, H-8, $J=7.9$ Hz); 8.09 (d, 1H-Ar, H-1, $J=8.9$ Hz); 7.84 (t, 1H-Ar, H-6, $J=8.3$ Hz); 7.60 (d, 1H-Ar, H-5, $J=8.4$ Hz); 7.46 (t, 1H-Ar, H-7, $J=7.7$ Hz); 7.13 (d, 1H-Ar, H-4, $J=2.0$ Hz); 7.04 (dd, 1H-Ar, H-2, $J=8.6$ e 2.2 Hz); 3.93 (s, 3H, OCH_3).
- RMN ^{13}C (DMSO $[\text{d}_6]$, 50 MHz, δ) ppm: 174.9 (C=O); 164.9 (Cq-3); 157.6 (Cq-4a); 155.6 (Cq-4b); 135.0 (CH-6); 127.6 (CH-1); 125.9 (CH-8); 124.3 (CH-7); 121.2 (Cq-8a); 117.9 (CH-5); 114.9 (Cq-8b); 113.6 (CH-2); 100.5 (CH-4); 56.2 (3- OCH_3)

3.5.5 – Síntese de Hidróxi-Xantonas

Procedimento Experimental Geral

Em um balão de 50 mL foi pesado 0.2 g da metoxi-xantona de interesse e adicionado 20 mL de HBr (solução aquosa à 48%) e 25 mL de fenol. Esta mistura foi aquecida até refluxo por um período de 4.0 a 6.0 h., sendo a reação acompanhada por CCD. Após, a mistura reacional foi resfriada, dissolvida em 200 mL de água formando um precipitado que foi filtrado em Buchner e recristalizado com solvente apropriado, sendo posteriormente seco em estufa à 54°C para obter o produto puro. O Esquema 10 apresenta a síntese da 3-hidróxi-xantona **(23)**, que será identificada a seguir.



Esquema 10- Síntese de Hidróxi Xantonas

3.5.5.1 – 3-hidróxi-Xantona (23)

Síntese: Vide Procedimento Experimental Geral

Reagentes: 3-metóxi-xantona (PM=226 g/mol)

Tempo de reação: 4.0 h.

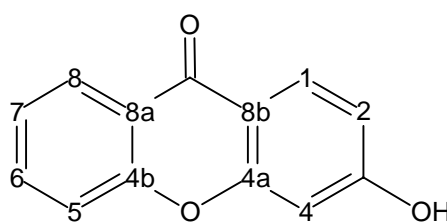
Temperatura da reação: $\approx 160\text{ }^{\circ}\text{C}$

Solvente para recristalização: acetona e água (50:50 %, v/v) sob carvão ativo

Rend = 72 %

p.f. = 241°C [242°C , Lin et al., 1993]

Nome IUPAC: 3-hidroxi-9*H*-9-xantenona



(23)

Dados espectroscópicos e espectrométricos:

- RMN ^1H (DMSO [d_6], 200 MHz, δ) ppm: 11.02 (s, 1H, OH); 8.17 (d, 1H-Ar, H-8, $J=7.8$ Hz); 8.07 (d, 1H-Ar, H-1, $J=8.6$ Hz); 7.83 (t, 1H-Ar, H-6, $J=8.2$ Hz); 7.60 (d, 1H-Ar, H-2, $J=8.3$ Hz); 7.46 (t, 1H-Ar, H-7, $J=7.4$ Hz); 6.96 (s, 1H-Ar, H-4); 6.90 (s, 1H-Ar, H-5).
- RMN ^{13}C (DMSO [d_6], 50 MHz, δ) ppm: 174.8 (C=O); 164.0 (Cq-3); 157.6 (Cq-4a); 155.6 (Cq-4b); 134.8 (CH-6); 128.0 (CH-1); 125.9 (CH-8); 124.1 (CH-7); 121.2 (Cq-8a); 117.8 (CH-5); 114.1 (CH-2); 114.0 (Cq-8b); 102.2 (CH-4).

3.6 - Testes Biológicos

3.6.1 - Atividade Antibacteriana

Os ensaios para testar a atividade antibacteriana dos compostos sintetizados neste trabalho foram feitos pela equipe do Profº Dr. Valdir Cechinel Filho do Núcleo de Investigações Químico-Farmacêuticas (NIQFAR)/FAQFAR, Universidade do Vale do Itajaí (UNIVALI).

3.6.1.1 - Microrganismos e Meio de Cultura

Os microrganismos usados para avaliar a atividade bactericida foram isolados clinicamente, os quais são citados abaixo:

- *Klebsiela axytocia*
- *Proteus mirabilis*
- *Staphylococcus aureus*
- *Pseudomonas aerogilosia*

3.6.1.2 - Método de Difusão em Ágar

O método utilizado foi o de difusão radial em ágar nutriente [Bauer, 1966], inoculado com bactérias anteriormente ativadas em caldo infusão de cérebro e coração. Posteriormente, a turbidez foi corrigida através de comparação com a escala de Macfarland. Após a inoculação das bactérias, depositou-se discos de papel esterilizados e adicionou-se aos mesmo os compostos na concentração desejada, dissolvidos em DMSO ou etanol. As placas foram incubadas a 37 °C por 18 h. quando então foram efetuadas as leituras dos halos de inibição. Paralelamente, foram feitos controles apenas com o solvente utilizado para dissolver os compostos em estudo.

3.6.2 - Atividade Antifúngica

Os ensaios para testar a atividade antifúngica dos compostos sintetizados neste trabalho foram feitos pela equipe da Profº Dr. Susana Zacchino do Departamento de Farmacognosia da Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacêuticas da Universidad Nacional de Rosario (UNR) na Argentina.

3.6.2.1 - Microrganismos e Meio de Cultura

Os seguintes microrganismos usados para avaliar a atividade antifúngica foram obtidos de American Type Culture Collection (Rockville, MD, USA):

Leveduriformes:

- *Candida albicans* ATCC 32264
- *Candida tropicalis* ATCC 32263
- *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 9763
- *Cryptococcus neoformans* ATCC 32265
- *Aspergillus fumigatus* ATCC 26934
- *Aspergillus flavus* ATCC 9170
- *Aspergillus niger* ATCC 9029

As cepas cresceram numa solução de ágar Sabouraud cloranfenicol por 48 h. à 30°C. A suspensão de células em água destilada esterilizada foi ajustada para fornecer uma concentração final de 10^6 células de levedura/ mL.

Dermatófitos:

- *Microsporum canis* C 112
- *Microsporum gypseum* C 115
- *Trichophyton mentagrophytes* ATCC 9972
- *Trichophyton rubrum* C113
- *Epidermophyton floccosum* C 114

Estes fungos, isolados clinicamente, foram fornecidos pelo Centro de Referência Micológica (CEREMIC) da Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacêuticas, Suipacha, Rosario - Argentina. Estes organismos foram mantidos em placas de ágar Sabouraud dextrose e subcultivados a cada 15 dias. A suspensão de germes foi obtida de acordo com o procedimento descrito por Wright (Wright, L, 1983) e ajustado para 10^6 germes/mL com habilidade de formar colônias.

3.6.2.2 - Método de Diluição em Ágar (CIM)

A atividade fungistática dos diferentes compostos sintetizados foi avaliada pelo método de diluição em ágar Sabouraud-cloranfenicol para ambos fungos leveduriformes e filamentosos. Soluções-estoque dos compostos em DMSO foram diluídas para fornecer séries repetidas de diluição as quais foram adicionadas em cada meio numa escala de concentração de 7.8 a 250 mg/mL. A concentração de DMSO no método não excedeu 2%. Usando uma micropipeta, um inóculo de 5 µL de células dermatófitas ou uma suspensão de germes foi adicionada em cada placa de ágar. O agente antifúngico Cetoconazol (Janssen Pharmaceutica) e anfotericina B (Sigma Chemical) foram incluídos

como controles positivos. Também foi utilizada a solução branco. As placas foram incubadas 24, 48 ou 72 h. a 30 °C (de acordo com o crescimento dos fungos) por 15 dias para as cepas dermatófitas. A CIM (Concentração Inibitória Mínima) foi definida como a concentração mínima dos compostos, necessária para a inibição do crescimento dos fungos após o tempo de incubação.

3.6.2.3 - Método Quantitativo de *Neurospora crassa*

30 mL de um meio contendo 0,5% de peptona proteose, extrato de leveduras, 4,0% de sacarose (reagente grau analítico) e 1,5% de ágar foram autoclavados a 115 °C por 15 min, inoculados com 30 µL de cepas de *Neurospora crassa* (IM70 ATCC 9279) a 40 °C e então espalhados como um filme em placas de Petri (diâmetro de 9 cm). Após o meio ficar solidificado, discos de papel filtro de ¼" (1430 Waukegan) foram aplicados ao meio. Soluções de DMSO das amostras foram aplicadas nos discos (25 µg/disco). Discos contendo DMSO foram o controle negativo incluído no método.

1,25 µL de Cilofungin (20 mg/mL–Eli Lilly) e Cetoconazol (Janssen Pharmaceutica) foram aplicados nos discos como controle positivo produzindo uma zona de leitura clara.

As zonas de inibição foram examinadas macroscopicamente pela aparência turva ou heterogênea da inibição seguida da incubação das placas à temperatura ambiente por 24 h. sob luz. Nos casos onde as zonas turvas foram observadas, a aparência microscópica dos fungos foi observada. Para a inoculação das cepas, *N. crassa* cresceu num meio contendo 0,25% (w/w), 0,25% (w/w) de extrato de leveduras, 1% de sacarose (w/w) e 1,5% de ágar. As cepas foram mantidas por 4-5 dias de incubação a temperatura ambiente e luz. Estas foram mantidas com um tampão contendo 0,075 g/100 mL K₂HPO₄ (reagente grau analítico), 0,10 g/100 mL KH₂PO₄ (reagente grau analítico) em uma solução de glicerol/água (15:85). A suspensão de germes livres foi preparada como descrita no item 3.6.2.1.

3.6.3 - Atividade Antinociceptiva

Os ensaios para testar a atividade antinociceptiva dos compostos sintetizados neste trabalho foram feitos pela equipe do Profº Dr. João B. Calixto do Departamento de Farmacologia da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC).

3.6.3.1 - Modelo de dor induzido pela Formalina

Camundongos suíços machos (25-35 g), foram acondicionados a $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$ com ciclo de 12 h. claro/12 h. escuro e com água e comida *ad libitum*. Os animais foram aclimatados no laboratório por, pelo menos, 1 h. antes da realização dos experimentos e usados apenas uma vez em cada teste.

20 μL de solução salina e formalina (25%, s.c) foram injetadas na região dorsal da pata posterior esquerda e direita dos animais, respectivamente. Logo após, iniciou-se a observação da reação à dor, cronometrando-se durante 30 min. O tempo que o animal permanece lambendo ou mordendo a pata é considerado como indicativo de dor. Duas fases de sensibilidade são observadas neste modelo:

- Primeira Fase: aparece nos primeiros 5 min após a injeção da formalina (dor neurogênica);
- Segunda Fase: ocorre entre 15 e 30 min após a injeção da formalina, representando a resposta tônica à dor, acompanhada de uma resposta inflamatória relacionada à liberação de mediadores químicos [Hunskar et al, 1987].

Os animais foram pré-tratados com os compostos em estudo, administrados por via intraperitoneal (1-120 mg/kg), 30 min antes e por via oral (100-400 mg/kg) 1 h. antes da injeção da formalina.

O grupo controle recebeu o veículo (solução de NaCl 0.9%, 10 mL/kg) utilizado para diluir os compostos. Ao final do tempo de observação, os animais foram sacrificados por deslocamento cervical e as patas posteriores cortadas e pesadas em balança analítica para a quantificação do edema associado à Segunda fase de dor induzida pela formalina.

A diferença do peso (mg) da pata direita (injetada com formalina) e da pata esquerda (injetada com salina) foi correspondente ao edema induzido pela formalina.

3.6.4 - Atividade Antiparasitária

Os ensaios para testar a atividade antiparasitária dos compostos sintetizados neste trabalho foram feitos pela equipe do Prof^o Dr. Adair R.S. Santos do Departamento de Farmácia da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC).

3.6.4.1 – Cultura de *T. cruzi* e *L. amazonensis*

Os compostos testados seguiram a metodologia [Lunardi et al, 2003], com algumas modificações sendo solubilizados em DMSO 70% em solução salina tampão de fosfato para a preparação da solução de trabalho a 20 mg/mL de concentração de cada composto e posteriormente os mesmos foram filtrado utilizando filtro Millipore 0.22 μm .

Culturas de formas promastigotas de *Leishmania amazonensis* (cepa 519, proveniente do Instituto Evandro Chagas – Belém) e formas epimastigotas de *Trypanosoma cruzi* (cepa Y), cresceram à 28 °C em meio Schneider e em meio TC100 contendo 5 e 10% de soro bovino fetal (SBF) inativado (56 °C por 30 min.), respectivamente. Para avaliar a inibição do crescimento dos parasitas *L. amazonensis* e *T. cruzi* foram coletados da cultura em 4 e 5 dias, respectivamente. Para avaliar as propriedades tripanossomicidas e leishmanicidas, os parasitas foram lavados 2 vezes em solução salina tampão de fosfato e centrifugados a 1,000 X g por 10 min a temperatura ambiente. A concentração foi ajustada para 5×10^6 parasitas/mL no meio TC100 mais 10% SBF para *T. cruzi* ou em meio Schneider mais 5% SBF para *L. amazonensis*. 115 µL da suspensão de parasitas foi adicionado nos orifícios da placa Elisa e incubadas à 26 °C por 72 h. na presença ou ausência dos compostos (30 a 500 µg/mL). Três a quatro experimentos foram realizados em triplicata e o número de parasitas sobreviventes foi determinado através da contagem em câmara de Neubauer.

Os testes foram conduzidos tendo como controles o branco (ausência de fármacos) e na presença de fármacos utilizados no mercado tais como benznidazol (50 µg/mL) ou anfotericina B (50 ng/mL).

Os dados obtidos foram analisados pela análise one-way de variância pelo teste de comparação múltipla de Dunnett's. A CI_{50} (Concentração Inibitória de 50%) foi determinada pela análise de regressão linear dos dados dos experimentos individuais. A percentagem de Inibição Máxima (IM) foi calculada conforme a equação abaixo:

$$\frac{[(n^{\circ} \text{ parasitas do grupo veículo}) - (n^{\circ} \text{ parasitas do grupo de compostos})]}{(n^{\circ} \text{ parasitas do grupo veículo})} \times 100 \quad \text{Eq. 9}$$

3.7 - Modelo de Correlação Estrutura-Atividade (SAR)

A análise e aplicação da correlação entre estrutura química e atividade biológica tem como principal objetivo realizar um planejamento racional de novas moléculas ativas. Desta forma foram desenvolvidos vários métodos de correlação que auxiliam na predição de quais grupos ou átomos podem ser introduzidos em uma molécula para torná-la mais ativa.

O principal método foi desenvolvido por Hansch em 1961, onde o mesmo relaciona a atividade biológica com as propriedades físico-químicas tais como coeficiente de partição (P), constante de hidrofobicidade (π), grau de ionização, efeitos estéricos e

efeitos eletrônicos (constante σ de Hammett). Outros métodos derivaram-se deste, sendo que o Método Manual de Topliss foi o utilizado no presente trabalho.

3.7.1 - Método Manual de Topliss

Utilizando os princípios básicos de Hansch, Topliss desenvolveu métodos para correlacionar qualitativamente a estrutura química com a atividade biológica.

O método manual requer a síntese de 5 derivados contendo os seguintes substituintes: H; 4-Cl; 3,4-Cl₂; 4-CH₃ e 4-OCH₃, os quais são acessíveis como materiais de partida, bem como possuem diferentes parâmetros a serem analisados.

A atividade biológica é avaliada em relação aos parâmetros π (constante de hidrofobicidade), σ (constante de Hammett), e efeitos π e σ relacionados (π - σ ; π -2 σ ; π -3 σ ; π + σ , etc.), conforme apresentados na Tabela 2.

Tabela 2 – Valores dos parâmetros físico-químicos π e σ e ambos relacionados [Topliss, 1977]:

Substituinte	π	σ	π - σ	2 π - σ	π -2 σ	π -3 σ	- σ	π + σ	2 π - π^2
H	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4-Cl	0.71	0.23	0.48	1.19	0.25	0.02	-0.23	0.94	0.92
3,4-Cl ₂	1.25	0.52	0.73	1.98	0.21	-0.31	-0.52	1.77	0.94
4-CH ₃	0.56	-0.17	0.73	1.29	0.90	1.07	0.17	0.39	0.81
4-OCH ₃	-0.02	-0.27	0.25	0.23	0.52	0.79	0.27	-0.29	-0.04
3-CF ₃ , 4-Cl	1.59	0.66	0.93	2.52	2.91	-0.39	-0.66	2.25	0.65
3-CF ₃ , 4-NO ₂	0.60	1.21	-0.61	-0.01	-1.82	-2.97	-1.21	1.81	0.84
4-CF ₃	0.88	0.54	0.34	1.22	-0.20	-0.74	-0.54	1.42	0.99
2,4-Cl ₂	1.42	0.46	0.96	2.38	0.50	0.04	-0.46	1.88	0.82
c-C ₅ H ₉	2.14	-0.02	2.16	4.30	2.18	2.20	0.02	2.12	-0.30
c-C ₆ H ₁₁	2.51	-0.22	2.73	5.24	2.95	3.17	0.22	2.29	-1.28
4-CH(CH ₃) ₂	1.53	-0.05	1.58	3.11	1.63	1.68	0.05	1.48	0.72
4-C(CH ₃) ₃	1.98	-0.20	2.18	4.16	2.38	2.58	0.20	1.78	0.04
3,4-(CH ₃) ₂	0.99	-0.30	1.29	2.28	1.59	1.89	0.30	0.69	1.00
4-O(CH ₂) ₃ CH ₃	1.55	-0.32	1.87	3.42	2.19	2.51	0.32	1.23	0.70
4-N(C ₃ H ₅) ₂	1.18	-0.83	2.01	3.19	3.84	4.67	0.83	0.35	0.97
4-N(CH ₃) ₂	0.18	-0.83	1.01	1.19	1.84	2.67	0.83	-0.65	0.33
4-NH ₂	-1.23	-0.66	-0.57	-1.80	0.09	0.75	0.66	-1.89	-3.97
4-NHC ₄ H ₉	1.45	-0.51	1.96	2.39	2.47	2.98	0.51	0.94	0.80

4-OCH(CH ₃) ₂	1.03	-0.45	1.48	2.51	1.93	2.38	0.45	0.58	1.00
3-CH ₃ , 4-OCH ₃	0.54	-0.26	0.80	1.34	1.06	1.32	0.26	0.28	0.79
4-Br	0.86	0.23	0.57	1.49	0.40	1.55	-0.23	1.09	0.98
3-CF ₃	0.88	0.43	0.45	1.43	0.02	2.17	-0.43	1.31	0.99
4-C ₂ H ₅	1.02	-0.15	1.17	2.19	1.32	1.47	0.15	0.87	1.00
4-O(CH ₂) ₂ CH ₃	1.05	-0.25	1.30	2.35	1.55	1.80	0.25	0.80	1.00
3-CH ₃ , 4-Cl	1.29	0.17	1.12	2.41	0.95	0.78	-0.17	1.46	0.92
3-Cl	0.71	0.37	0.34	1.05	-0.03	-0.30	-0.37	1.08	0.92
3-CH ₃	0.56	-0.07	0.63	1.19	0.70	0.77	0.07	0.49	0.81
3-OCH ₃	-0.02	0.12	-0.14	-0.16	-0.26	-0.38	-0.12	0.10	-0.04
3-N(CH ₃) ₂	0.18	-0.15	0.33	0.51	0.48	0.63	0.15	0.03	0.33
3,5-Cl ₂	1.25	0.75	0.50	1.75	-0.25	-1.00	-0.75	2.20	0.94
2-Cl	0.71	0.23	0.48	1.19	0.25	0.02	-0.23	0.94	0.92
2-CH ₃	0.56	-0.17	0.73	1.29	0.90	1.07	0.17	0.39	0.81
2-OCH ₃	-0.02	-0.27	0.25	0.23	0.52	0.79	0.27	-0.29	-0.04
2-F	0.14	0.06	0.08	0.22	0.02	-0.04	-0.06	0.20	0.28
4-F	0.14	0.06	0.08	0.22	0.02	-0.04	-0.06	0.20	0.28
4-NHCOCH ₃	-0.97	0.00	-0.97	-1.94	-0.97	-0.97	0.00	-0.97	-2.88
4-NHSO ₂ CH ₃	-1.18	0.03	-1.21	-2.39	-1.24	-1.27	-0.03	-1.15	-3.75
4-NO ₂	-0.28	0.78	-1.06	-1.34	-1.84	-2.62	-0.78	0.50	-0.64
4-COCH ₃	-0.55	0.50	-1.5	-1.60	-1.55	-2.05	-0.50	-0.05	-1.40
4-SO ₂ CH ₃	-1.63	0.72	-2.35	-3.98	-3.07	-3.79	-0.72	-0.72	-5.92
4-CONH ₂	-1.49	0.36	-1.85	-3.34	-2.21	-2.57	-0.36	-1.13	-5.20
4-SO ₂ NH ₂	-1.82	0.57	-2.39	-4.21	-3.01	-3.53	-0.57	-1.25	-6.95

A ordem de potência projetada dos 5 derivados de Topliss para vários parâmetros relacionados, considerando efeitos estéricos (Es) são mostrados na Tabela 3.

Tabela 3 – Ordem de potência para vários parâmetros físico-químicos [Topliss, 1977].

Substituinte	π	$2\pi-\pi^2$	σ	$\pi+\sigma$	$2\pi-\sigma$	$\pi-\sigma$	$\pi-2\sigma$	$\pi-3\sigma$	Es
3,4-Cl ₂	1	1-2	1	1	1	1-2	3-4	5	2-5
4-Cl	2	1-2	2	2	2-3	3	3-4	3-4	2-5
4-CH ₃	3	3	4	3	2-3	1-2	1	1	2-5
4-OCH ₃	4-5	4-5	5	5	4	4	2	2	2-5
H	4-5	4-5	3	4	5	5	5	3-4	1

A seguir os compostos testados experimentalmente são colocados em ordem de atividade e comparados com a ordem destes parâmetros.

A Tabela 4 indica uma seleção de novos substituintes que podem melhorar a atividade farmacológica dos compostos em estudo. Aos parâmetros relacionados π e σ , baseados nos estudos de correlação de Hansch, Topliss incluiu também os efeitos estéricos Es, que muitas vezes exercem influência dominante. Estes parâmetros foram agrupados de modo a obter-se uma maior diferença entre os valores.

Tabela 4 – Proposta de Topliss para a seleção de novos substituintes [Topliss, 1977].

Parâmetros Ativos	Seleção de Novos Substituintes
π , $\pi+\sigma$, σ	3-CF ₃ ; 4-Cl; 4-NO ₂ ; 4-CF ₃ ; 2,4-Cl ₂ ; 4-C ₅ H ₉ ; 4-C ₆ H ₉
π , $2\pi-\sigma$, $\pi-\sigma$	4-CH(CH ₃) ₂ ; 4-C(CH ₃) ₃ ; 3,4(CH ₃) ₂ ; 4-O(CH ₂) ₃ CH ₃ ; 4-OCH ₂ Ph; 4-N(CH ₂ CH ₃) ₂
$\pi-2\sigma$, $\pi-3\sigma$, σ	4-N(CH ₂ CH ₃) ₂ ; 4-N(CH ₃) ₂ ; 4-NH ₂ ; 4-NHC ₄ H ₉ ; 4-OH; 4-OCH(CH ₃) ₂ ; 3-CH ₃ ; 4-OCH ₃
$2\pi-\pi^2$	4-Br; 3-CF ₃ ; 3,4-(CH ₃) ₂ ; 4-C ₂ H ₅ ; 3-Cl; 3-CH ₃ ; 3-N(CH ₃) ₂ ; 3,5-Cl ₂

Também aplica-se com relativo sucesso este método com apenas 4 substituintes, sendo que baseado nos resultados de apenas 4 ou 5 análogos pode-se prever a rota sintética provável para a obtenção de compostos farmacologicamente mais potentes.

4 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

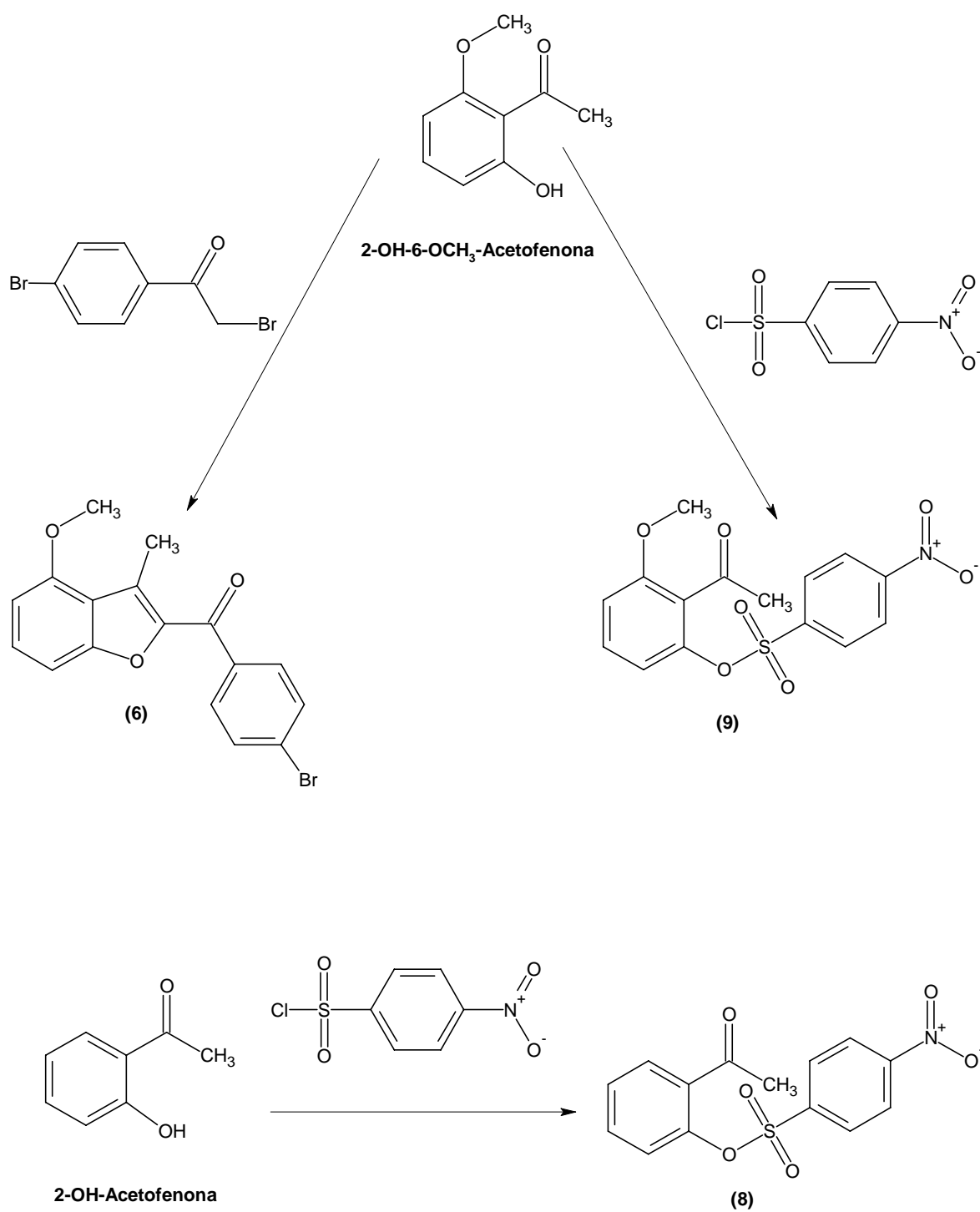
4.1 - Resultados das Sínteses

Os compostos sintetizados neste trabalho, apesar de envolverem metodologias sintéticas já descritas anteriormente, viabilizaram uma série de produtos inéditos na literatura até o presente, tais como **(5; 6; 7a; 7b; 7c; 7e; 7f; 8; 9; 10e)** os quais foram nomeados conforme as regras da nomenclatura internacional IUPAC.

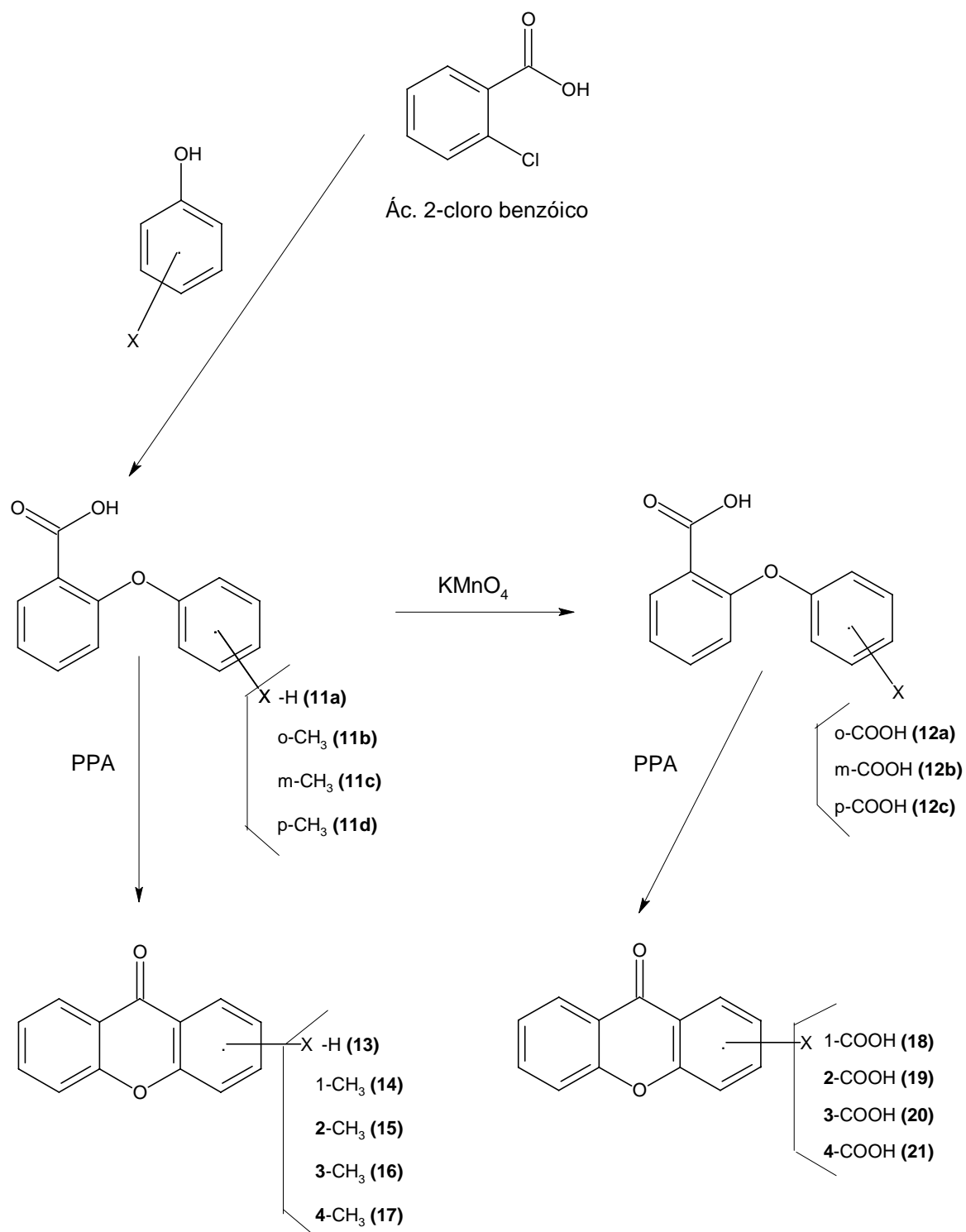
Ressalta-se aqui que o direcionamento das sínteses se fez devido ao isolamento de produtos naturais, chamados de estruturas-base para as modificações, tais como a xantoxilina, produto natural isolado em nosso laboratório das partes aéreas da espécie *Sebastiania schottiana* (Euphorbiaceae), que demonstrou comprovada ação antiespasmódica [Calixto et. al., 1990; Miguel, 1987] e xantonas, produtos naturais isolados da espécie vegetal *Polygala cyparissias* que demonstraram promissores resultados analgésicos [Pinheiro, 1996].

O Esquema 11 apresenta as sínteses dos derivados da xantoxilina. Já no Esquema 12 observam-se as sínteses dos derivados obtidos através das acetofenonas análogas a xantoxilina. Alguns dos derivados sintetizados apresentaram resultados farmacológicos adequados para proporcionar os estudos de correlação estrutura-atividade, como será descrito a seguir.

Para as xantonas, o trabalho realizado foi de síntese de análogos com grupos metila e carboxila, conforme apresentado no Esquema 13, sem partir dos produtos naturais isolados da planta tais como hidroxí e metoxi xantonas, pois seus rendimentos com o isolamento foram muito baixos, sendo impossível a realização de modificações estruturais. Considera-se também nesta etapa a disponibilidade dos reagentes de laboratório utilizados para a obtenção destes análogos, bem como as condições de síntese dos mesmos.



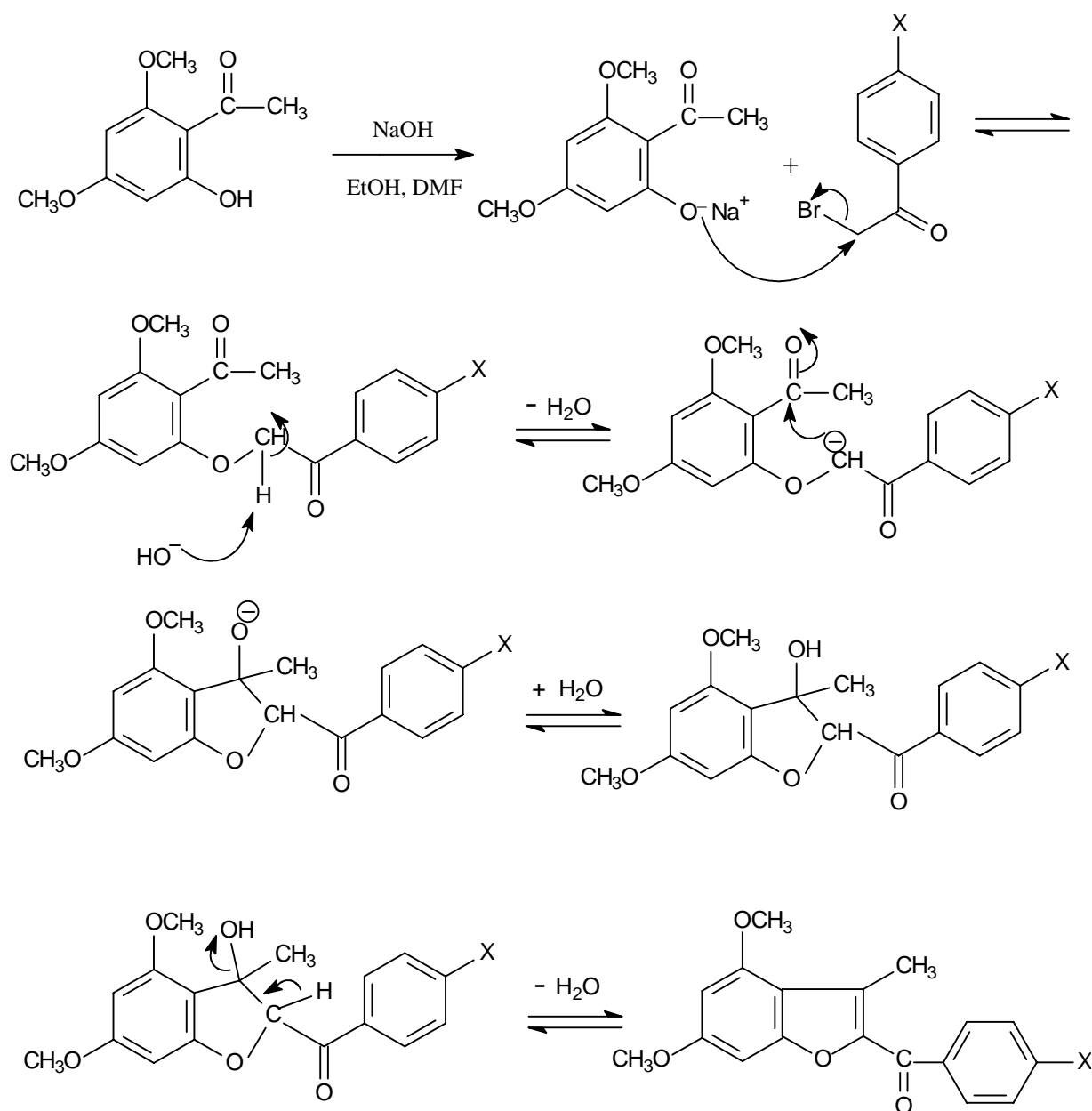
Esquema 12 - Síntese dos Análogos da Xantoxilina



Esquema 13 - Síntese das Xantonas

4.2 – Compostos obtidos da Reação com Brometos de Fenacila

Da reação da xantoxilina (**1**) com os brometos de fenacila substituídos foram obtidos os derivados benzofurânicos através de condensação aldólica intramolecular, conforme Esquema 14. Os dados espectroscópicos e espectrométricos do composto (**5**) serão discutidos como os representantes desta série, pois além deste composto ser inédito na literatura até o presente, os compostos **4a**, **4b** e **4c** já foram sintetizados e caracterizados anteriormente [Cechinel Filho, 1996b].



Esquema 14 - Mecanismo proposto para a formação dos Derivados Benzofurânicos

4.2.1 – Síntese e caracterização do Composto (5)

O composto **(4a)** mostrou-se extremamente potente como analgésico em distintos modelos de dor em camundongos [Vaz, et al, 1996; Cechinel, et al, 1996b], sendo porém pouco eficaz quando administrado por via oral. Esta molécula foi estruturalmente modificada, realizando-se uma redução com boridreto de sódio no grupo carbonila formando o derivado **(5)**. A base para este tipo de modificação deve-se ao fato de que, compostos que possuem características mais hidrofílicas são mais facilmente absorvidos via oral pela maior solubilidade dos mesmos. Assim, a redução do grupo carbonila formando um grupo hidroxila, fornece um caráter mais hidrofílico à molécula.

O espectro de IV mostra o aparecimento de uma banda larga de deformação axial em 3292 cm^{-1} típico de grupo hidroxila, mostrando a redução da carbonila e caracterizando a formação do álcool.

O espectro de Massas apresenta o pico molecular em $m/z=377$ com 100% de intensidade. As demais fragmentações ocorrem pela perda da hidroxila e do átomo de Bromo, formando os íons $m/z=359$ e 296 , respectivamente.

No espectro de RMN ^1H , obtido em CDCl_3 , observa-se um dublete em 7.38 ppm referente a 2 H aromáticos (H-3'e 5') com constante de acoplamento orto $J=8.47\text{ Hz}$. Na sequência, observa-se um dublete em 7.23 ppm referente a 2 H aromáticos (H-2'e 6') com constante de acoplamento orto $J=8.40\text{ Hz}$. Em 6.42 ppm observa-se um dublete de H aromático (H-7 ou H-5) com constante de acoplamento meta $J=1.78\text{ Hz}$ e em 6.16 ppm observa-se um dublete de H aromático (H-5 ou H-7) com constante de acoplamento meta $J=1.76\text{ Hz}$.

Em 5.83 ppm observa-se um dublete referente ao H ligado ao grupo hidroxila. O pico do grupo OH não aparece no espectro devido a provável presença de água no solvente ou na amostra, mas o mesmo deveria aparecer próximo a região de 3.6 ppm. Em 3.76 e 3.69 ppm observam-se 2 singletes dos grupos metoxila referentes aos carbonos C-4 e C-6. Em 2.27 ppm observa-se a metila na posição 3.

No espectro de RMN ^{13}C confirma-se a redução da carbonila formando o carbono CH em 68.0 ppm. Também verificou-se a presença de 8 carbonos quaternários em 159.9 ppm (Cq-4); 156.8 ppm (Cq-6); 155.9 ppm (Cq-8); 149.5 ppm (Cq-2); 140.8 ppm (Cq-1'); 122.2 ppm (Cq-4'); 113.9 ppm (Cq-3) e 112.0 ppm (Cq-9), sendo que os valores atribuídos aos carbonos podem ser interconvertíveis.

Pode-se observar a presença de 6 carbonos CH aromáticos em 132.2 ppm (CH-3'e 5'); 128.7 ppm (CH-2'e 6'); 94.7 ppm (CH-7) e 88.7 ppm (CH-5), sendo que estes dois últimos carbonos podem ter valores interconvertíveis. O espectro mostra também as duas

metoxilas em 56.4 e 56.1 ppm e o grupo metila em 10.5 ppm caracterizando assim a estrutura do composto **(5)**.

Os valores de deslocamento químico de próton da série dos derivados benzofurânicos (acima descrita) podem ser comparados na tabela 5.

Tabela 5 – Valores de deslocamentos de RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3), $\delta(\text{ppm})$, J (Hz) para os compostos **(4a, 5 e 6)**.

^1H	(4a)	(5)	(6)
CH₃	2.75 (s)	2.27 (s)	2.83 (s)
6-OCH₃	3.85* (s)	3.69* (s)	-
4-OCH₃	3.89* (s)	3.76* (s)	3.97 (s)
H-5	6.28* (d, $J=1.8$)	6.16* (d, $J=1.76$)	7.11* (d, $J=8.42$)
H-7	6.55* (d, $J=1.8$)	6.42* (d, $J=1.78$)	6.68* (d, $J=7.98$)
H-6	—	—	7.41 (t, $J=8.43$)
H-2' e 6'	7.63 (d, $J=8.53$)	7.23 (d, $J=8.40$)	7.66 (d, $J=8.39$)
H-3' e 5'	7.91 (d, $J=8.50$)	7.38 (d, $J=8.47$)	7.96 (d, $J=8.41$)
CH-OH	-	5.83 (d)	-

* os valores podem ser interconvertíveis.

Os dados apresentados na Tabela 5 demonstram pequenas variações de sinais dos grupos metila e metoxila. Entretanto, com a redução do grupo carbonila **(5)** pode-se notar que os prótons aromáticos do anel substituído (anel ') deslocaram-se para campos mais altos demonstrando que a presença do grupo OH auxilia na maior blindagem destes prótons.

4.3 – Compostos Obtidos da Reação com Cloretos de Benzeno Sulfonila

Outra série de compostos obtidos a partir da síntese da xantoxilina com os cloretos de sulfonila substituídos foram os derivados benzenossulfonílicos **(7a-f, 8 e 9)**.

Os dados espectroscópicos e espectrométricos do composto **(7a)** serão discutidos como os representantes desta série, sendo que todos estes compostos, com exceção do **(7d)**, são inéditos na literatura até o presente.

4.3.1 – Caracterização do Derivado (7a)

O espectro de IV mostra uma banda larga de deformação axial em 3084 cm^{-1} típico de ligação CH aromática e outra banda em $2974\text{-}2938\text{ cm}^{-1}$ típico de deformação axial alifática dos grupos metila e metoxila. Em 1688 cm^{-1} observa-se uma banda intensa de deformação axial do grupo carbonila e em 1612 cm^{-1} observam-se deformações axiais de C-C de anel aromático. Este produto também apresenta bandas de deformação axiais assimétricas e simétricas de grupos sulfonatos (S=O) em 1368 e 1164 cm^{-1} , respectivamente.

O espectro de Massas apresenta o pico molecular em $m/z=366$. As demais fragmentações ocorrem pela perda do grupo metila formando o íon $m/z=351$ ou pela perda do anel da xantoxilina formando o íon $m/z=171$, sendo este íon o mais estável com 100% de intensidade.

No espectro de RMN ^1H , obtido em CDCl_3 , observa-se um dublete em 7.82 ppm referente a 2 H aromáticos (H-2'e 6') com constante de acoplamento orto $J=8.91\text{ Hz}$. Na sequência observa-se um dublete em 6.99 ppm referente a 2 H aromáticos (H-3'e 5') com constante de acoplamento orto $J=9.05\text{ Hz}$. Em 6.40 ppm observa-se um dublete de H aromático (H-6 ou H-4) com constante de acoplamento meta $J=1.96\text{ Hz}$ e em 6.37 ppm observa-se um dublete de H aromático (H-4 ou H-6) com constante de acoplamento meta $J=2.04\text{ Hz}$.

Em 3.88, 3.79 e 3.76 ppm observam-se 3 singletes dos grupos metoxila referentes aos carbonos C-4', C-3 e C-5. Em 2.37 ppm observa-se o singlete da metila referente ao grupo acetila.

No espectro de RMN ^{13}C verifica-se a presença da carbonila em 199.4 ppm (C=O) e 6 carbonos quaternários em 164.9 ppm (Cq-5); 162.3 ppm (Cq-1); 159.1 ppm (Cq-3); 147.6 ppm (Cq-4'); 127.2 ppm (Cq-1') e 118.8 ppm (Cq-2), sendo que os valores dos carbonos quaternários podem ser interconvertíveis. Pode-se observar a presença de 6 carbonos CH aromáticos em 131.5 ppm (CH-2'e 6'); 115.1 ppm (CH-3'e 5'); 100.7 ppm (CH-6 ou 4) e 98.1 ppm (CH-4 ou 6). O espectro mostra também as metoxilas em 56.6 ppm (3 ou 5-OCH₃); 56.4 ppm (5 ou 3-OCH₃) e em 56.3 ppm (4'-OCH₃) e o grupo metila em 32.7 ppm caracterizando assim a estrutura do composto **(7a)**.

4.3.2 – Síntese dos Derivados (8 e 9)

Nas reações dos análogos da xantoxilina tais como: 2-hidroxi-acetofenona e 2-hidroxi-6-metoxiacetofenona com os cloretos de benzeno sulfonila, formaram-se somente os derivados **(8 e 9)**, respectivamente, os quais possuem substituição do anel benzenossulfonílico em posição *para* do grupo NO₂. A obtenção de derivados com este

grupo deve-se ao grupo NO_2 ser o substituínte que mais desativa o anel benzenossulfonílico por ser retirador de elétrons do anel aromático. Os dois grupos metoxila no anel aromático da xantoxilina auxiliam na síntese destes compostos fazendo conjugação com o grupo carbonila, favorecendo a quebra da ponte de hidrogênio que se forma entre o grupo hidroxila vicinal à carbonila. Se esta ponte de hidrogênio é quebrada, o nucleófilo fenóxi fica disponível. Se não existem grupos metoxila (principalmente o da posição *para* em relação à carbonila), a mesma não sofre conjugação e consequentemente dificulta a intensificação da força do nucleófilo.

As reações destas duas acetofenonas com os derivados benzenossulfonílicos tais como 4-Br, 4- OCH_3 e 4-Cl não ocorreram.

Os valores de deslocamento químico de próton da série dos derivados benzenossulfonílicos (acima descrita) podem ser comparados na Tabela 6.

Os dados apresentados demonstraram pequenas variações dos grupos metila, com exceção dos análogos da xantoxilina (**8 e 9**)

Entretanto, pode-se observar que os prótons aromáticos (3' e 5') vicinais ao grupo p- NO_2 deslocam-se para campo mais baixo, demonstrando que o grupo NO_2 desblinda os prótons vicinais devido a ser um forte grupo retirador de elétrons por efeito mesomérico. Os demais substituintes retiradores de elétrons do anel, tais como Br e Cl, além de possuírem efeito retirador de elétrons também possuem efeito indutivo doador de elétrons, não permitindo que o efeito retirador interfira nos efeitos eletrônicos da molécula como um todo.

Estes fatos corroboram com os resultados das sínteses dos análogos da Xantoxilina, os quais só formaram os respectivos derivados benzenossulfonílicos com o cloreto de p-nitro-sulfonila, salientando assim a influência de grupos doadores e/ou aceptores de elétrons na obtenção de derivados benzenosulfonílicos.

Tabela 6

4.4 – Compostos Obtidos da Reação com Brometos/Cloretos de Benzila

A síntese dos derivados desta série foi realizada com os haletos de benzila disponíveis, tais como brometos e cloretos. Assim, para obter os derivados desta série foram empregados os haletos substituídos com a xantoxilina, sendo que pode-se observar que as sínteses apresentaram melhores rendimentos quando utilizou-se brometos de benzila substituídos, sendo este um melhor grupo de saída que o cloreto.

Da reação da xantoxilina com os haletos de benzila substituídos foram obtidos os compostos **(10a-e)**, obtidos através da substituição nucleofílica de segunda ordem ocorrida entre o grupo fenóxi e os haletos de benzila substituídos. Os dados espectroscópicos e espectrométricos do composto **(10e)** serão discutidos como os representantes desta série devido a este ser inédito na literatura até o presente.

4.4.1 – Caracterização do Derivado (10e)

O espectro de IV mostra uma banda larga de deformação axial em 3001 cm^{-1} típico de ligação CH aromática e outra banda em $2942\text{-}2841\text{ cm}^{-1}$ típico de deformação axial alifática dos grupos metila e metoxila. Em 1695 cm^{-1} observa-se uma banda intensa de deformação axial do grupo carbonila e em 1606 cm^{-1} observam-se deformações axiais de C-C de anel aromático.

O espectro de Massas apresenta o pico molecular em $m/z=346$. As demais fragmentações ocorrem pela perda do grupo metila formando o íon $m/z=331$ ou pela perda do grupo metoxila formando o íon $m/z=315$. A quebra do anel benzílico substituído formando o íon $m/z=151$ mostra a formação do íon mais estável com 100% de intensidade.

No espectro de RMN ^1H , obtido em CDCl_3 , observa-se um singlete largo em 6.54 ppm referente a 2 H aromáticos (H-2' e 6'). Na sequência observa-se um singlete largo em 6.38 ppm referente a 1 H aromático (H-4'). Em 6.12 ppm observa-se um singlete largo de 2 H aromáticos (H-3 e 5) e em 4.99 ppm observa-se um singlete referente ao carbono alifático CH_2 . Em 3.77 ppm observa-se 1 singlete referente aos grupos metoxila das posições C-3', C-5', C-4 e C-6. Em 2.48 ppm observa-se o singlete da metila referente ao grupo acetila.

No espectro de RMN ^{13}C verifica-se a presença de 8 carbonos quaternários em 202.2 ppm (C=O); 162.8 ppm (Cq-2); 161.5 ppm (Cq-3' e 5'); 158.8 ppm (Cq-6); 157.8 ppm (Cq-4); 139.5 ppm (Cq-1') e 114.8 ppm (Cq-1), sendo que estes valores atribuídos aos carbonos podem ser interconversíveis. Pode-se observar a presença de 5 carbonos CH aromáticos em 105.3 ppm (CH-2' e 6'); 100.5 ppm (CH-4'); 92.6 ppm (CH-3) e 91.6

ppm (CH-5). O espectro mostra também carbono alifático em 70.9 ppm (CH₂); as metoxilas em 56.4 ppm (4 e 6-OCH₃); 55.9 ppm (3' e 5'-OCH₃) e o grupo metila em 33.2 ppm (CH₃) caracterizando assim a estrutura do composto **(10e)**.

4.5 – Síntese de Xantonas

4.5.1 - Síntese dos Intermediários Difenil-Éteres

A clássica reação de substituição aromática nucleofílica de Ullmann é ainda atualmente utilizada para a síntese de diaril-éteres a partir de haletos de arila e fenóis, onde optou-se pela reação com o ácido 2-cloro-benzóico e vários fenóis substituídos na presença de carbonato de potássio para a formação do fenolato do sal correspondente, e de catalisadores de cobre, tanto na forma elementar (Cu^0) como na forma de sal (CuI), devido a disponibilidade dos reagentes em questão.

Para a síntese dos difenil-éteres foram empregadas condições rigorosamente anidras na reação, uma vez que a presença de água transforma o sal potássico do fenol em fenol livre, impedindo assim o ataque do grupo fenóxi ao ácido 2-cloro-benzóico.

Assim foram obtidos os derivados com substituintes metila, conforme demonstrado no Esquema 13, sendo estes monitorados por cromatografia gasosa acoplada ao espectro de massas, onde pode-se constatar a formação destes intermediários como também verificar com certa precisão o final da reação. Os dados espectrométricos do ácido 2-fenóxi benzóico e do ácido 2-(2-metilfenóxi) benzóico serão discutidos como os representantes desta série, pois todos estes compostos já foram sintetizados e caracterizados anteriormente [Pickert et al, 1998].

4.5.1.1 – Caracterização do Ácido 2-fenóxi-Benzóico (11a)

O espectro de massas apresenta o pico molecular em $m/z=214$. As demais fragmentações ocorrem pela perda da hidroxila ($m/z=197$) ou da carbonila ($m/z=186$), bem como pela perda do grupo carboxila ($m/z=168$), sendo que a perda do fenol forma o íon $m/z=121$ mais estável com intensidade de 100%.

4.5.1.2 – Caracterização do Ácido 2-(2-metilfenóxi)-Benzóico (11b)

O espectro de massas apresenta o pico molecular em $m/z=228$, sendo este representativo para os demais isômeros *meta* e *para*. As demais fragmentações ocorrem pela perda de água ($m/z=210$) ou da carboxila ($m/z=183$), sendo que a perda do cresol forma o íon $m/z=121$, mais estável com intensidade de 100%.

4.5.2 - Síntese dos Intermediários Difenil-Éteres Carboxi

Para as reações de oxidação com permanganato de potássio em solução alcalina, utilizou-se um catalisador de transferência de fase (CTF) para aumentar a velocidade da reação e facilitar a interação dos reagentes em meio aquoso, obtendo-se os difenil-éteres substituídos com grupos carboxíla (Esquema 13), sendo estes monitorados por CCD e suas estruturas comprovados por espectroscopia de RMN ^1H e ^{13}C , devido aos mesmos não serem analisados por CG-MS, uma vez que estas estruturas devem ser derivatizadas quando da necessidade desta análise. Os dados espectroscópicos do ácido 2-(2-carboxifenóxi) benzóico (**12a**) serão discutidos como os representantes desta série, pois todos estes compostos já foram sintetizados e caracterizados anteriormente [Pickert et al, 1998a].

4.5.2.1 – Síntese do Ácido 2-(2-carboxifenóxi)-Benzóico (12a)

O espectro de IV mostra bandas largas de deformação axial em $2962\text{--}2550\text{ cm}^{-1}$ típicas de grupo hidroxila de ácido carboxílico. Em 1672 cm^{-1} observa-se a banda de deformação axial do grupo carboxila. Em 1604 cm^{-1} observam-se bandas de deformação axial de anel aromático típicas de ligação C-C e em 1238 cm^{-1} observam-se bandas de deformação axial de C-O.

No espectro de RMN ^1H , obtido em DMSO, observa-se um singlete em 12.82 ppm referente a 2 H das duas hidroxilas. Atenta-se aqui para o fato desta molécula ser simétrica. Em 7.84 ppm observa-se um dublete referente a 2 H aromáticos (H-6 e 3') com constante de acoplamento orto $J=7.03\text{ Hz}$. Na sequência observa-se um duplo dublete em 7.53 ppm referente a 2 H aromáticos (H-4 e 5') com constantes de acoplamento orto $J=7.37$ e 7.16 Hz . Em 7.23 ppm observa-se outro triplete referente a 2 H aromáticos (H-5 e 4') com constantes de acoplamento orto $J=7.41$ e 7.42 Hz . O sinal em 6.85 ppm refere-se a um dublete de 2 H aromáticos (H-3 e 6') com constante de acoplamento orto $J=8.12\text{ Hz}$.

O espectro de RMN ^{13}C confirma a simetria desta molécula mostrando em 166.5 ppm o pico das 2 carboxilas. Também verificou-se a presença de 4 carbonos quaternários em 155.7 ppm (Cq-2 e 1') e em 123.5 ppm (Cq-1 e 2'). Pode-se observar a presença de 8 carbonos CH aromáticos em 133.5 ppm (CH-4 e 5'); 131.4 ppm (CH-6 e 3'); 123.4 ppm (CH-5 e 4') e 119.6 ppm (CH-3 e 6'), caracterizando assim a estrutura do ácido 2-(2-carboxifenóxi) benzóico (**12a**).

4.5.3 - Síntese das Xantonas via Intermediários Difenil-éteres (DFE)

A síntese das xantonas via intermediários difenil-éteres ocorreu por acilação Friedel-Crafts intramolecular, auxiliada pelo Ácido Polifosfórico, conforme visto no Esquema 13 [Pickert et al, 1998]. Bons rendimentos foram obtidos para as metil-xantonas, comparando-se com as carboxi-xantonas, uma vez que grupos retiradores de elétrons no anel fenólico dificultam o ataque à carbonila. Também ressalta-se aqui que foi necessário o fornecimento de maior temperatura para a obtenção de carboxi-xantonas.

As xantonas obtidas a partir de m-cresóis formam-se através da livre rotação entre os carbonos C-2 e C-1' formando uma mistura isomérica de 1 e 3-metil xantonas. Já para as carboxi xantonas, devido aos efeitos mesoméricos, a ciclização tem preferência na formação de 1-carboxi-xantona.

Para as metil-xantonas pode-se observar nos espectros de RMN ^1H e ^{13}C a presença de dois anéis aromáticos condensados, sendo que os dados do composto 1-metil xantona (**14**) serão discutidos como os representantes desta série, pois todos estes compostos já foram sintetizados e caracterizados anteriormente [Pickert et al, 1998].

Os dados espectroscópicos e espectrométricos do composto 1-carboxi-xantona (**18**) também serão discutidos como os representantes desta série devido aos mesmo já terem sido sintetizados e caracterizados anteriormente [Pickert et al, 1998].

4.5.3.1 – Caracterização da 1-metil-Xantona (**14**)

O espectro de IV mostra uma banda de deformação axial em 3070 cm^{-1} típico de ligação CH aromática e outra banda em 2964 cm^{-1} típico de deformação axial alifática do grupo metila. Em 1654 cm^{-1} observa-se uma banda intensa de deformação axial do grupo carbonila, e em 1598 e 1296 cm^{-1} observam-se deformações axiais C-C e C-O de anel aromático, respectivamente.

O espectro de Massas apresenta o pico molecular em $m/z=210$ como o íon mais estável com 100% de intensidade. As demais fragmentações ocorrem pela perda do grupo metila formando o íon $m/z=195$ ou pela perda do grupo CHO formando o íon $m/z=181$.

No espectro de RMN ^1H , obtido em CDCl_3 , observa-se um dublete em 8.25 ppm referente a 1 H aromático (H-8) com constante de acoplamento orto $J=7.69\text{ Hz}$. Na sequência observa-se um duplo dublete em 7.65 ppm referente a 1 H aromáticos (H-6) com constantes de acoplamento orto $J=7.36$ e 7.40 Hz .

Em 7.50 ppm observa-se um duplo dublete de H aromático (H-3) com constantes de acoplamento orto $J=7.83$ e 7.74 Hz . Em 7.34 ppm observa-se um multiplete referente

a 3 H aromáticos (CH-4, 5 e 7) e em 7.08 ppm observa-se um dublete referente a 1 H aromático (CH-2) com constante de acoplamento orto $J=7.09$ Hz. Na região de campo mais alto observa-se um singlete em 2.91 ppm referente aos hidrogênios do grupo metila.

No espectro de RMN ^{13}C verifica-se a presença da carbonila em 179.5 ppm e 5 carbonos quaternários em 158.2 ppm (Cq-4a); 155.9 ppm (Cq-4b); 142.7 ppm (Cq-1); 123.4 ppm (Cq-8a) e 120.9 ppm (Cq-8b). Pode-se observar a presença de 7 carbonos CH aromáticos em 135.0 ppm (CH-6); 134.3 ppm (CH-2); 127.3 ppm (CH-2 e 8); 124.3 ppm (CH-7); 118.1 ppm (CH-5) e 116.6 ppm (CH-4). O espectro mostra também o grupo metila em 23.9 ppm caracterizando assim a estrutura da 1-metil-Xantona (**14**).

4.5.3.2 – Caracterização da 1-carboxi-Xantona (**18**)

O espectro de IV mostra uma banda de deformação axial em 3008 cm^{-1} típico de grupo hidroxila. Em 1700 cm^{-1} observa-se uma banda larga típico do grupo carboxila e em 1662 uma banda típica de grupo carbonila. Pode-se observar também em 1598 cm^{-1} uma banda de deformação axial aromática típica de C-C, e em 1296 cm^{-1} observam-se deformações axiais do grupo C-O.

No espectro de RMN ^1H , obtido em DMSO [d_6], observa-se um dublete em 8.19 ppm referente a 1 H aromático (H-8) com constante de acoplamento orto $J=7.78$ Hz. Na sequência observa-se um multiplete em 7.92 ppm referente a 2 H aromáticos (H-6 e 3). Em 7.71 ppm observa-se outro multiplete referente a 2 H aromáticos (H-4 e 5) e em 7.49 ppm observa-se um multiplete referente a 2 H aromáticos (H-2 e 7).

Os dados espectroscópicos de RMN ^{13}C confirmam a formação de carboxi-xantonas pelo desaparecimento do sinal referente à segunda carboxila presente nos intermediários destes compostos.

Assim, verifica-se a presença da carbonila em 175.1 ppm e em 169.9 ppm observa-se a presença do grupo carboxila. Também podem-se verificar os picos de 5 carbonos quaternários em 155.4 ppm (Cq-4a); 155.1 ppm (Cq-4b); 135.2 ppm (Cq-1); 121.1 ppm (Cq-8a) e 117.4 ppm (Cq-8b). Pode-se observar a presença de 7 carbonos CH aromáticos em 135.7 ppm (CH-6); 135.4 ppm (CH-3); 125.9 ppm (CH-8); 124.6 ppm (CH-7); 122.4 ppm (CH-2) e 119.0 ppm (CH-4) e 118.0 ppm (CH-5).

4.5.4 - Síntese das Xantonas via Intermediários Benzofenonas

A síntese das xantonas via intermediários benzofenona ocorreu na presença de hidróxido de tetrametilamônio onde este último é utilizado em solução aquosa para promover a reação de eliminação de Hofmann do tipo E2, que ocorre num único estado de transição sem rearranjo [Solomons, 1996]. Estes tipos de hidróxidos de amônio quaternários podem ser utilizados para a desidratação de benzofenonas, formando assim as xantonas de interesse.

4.5.4.1 – Caracterização da 3-metóxi-Xantona (22)

Os dados espectroscópicos e espectrométricos deste composto foram obtidos para a confirmação da estrutura, sendo anteriormente sintetizado [Lin et al, 1993]. Entretanto a caracterização deste composto é descrita a seguir:

O espectro de IV mostra uma banda de deformação axial do grupo carbonila em 1650 cm^{-1} e em 1615 e 1264 cm^{-1} observam-se deformações axiais C-C e C-O de anel aromático, respectivamente. Em 1098 cm^{-1} observa-se a banda de deformação axial do grupo C-O-C típico de éter.

O espectro de Massas apresenta o pico molecular em $m/z=226$ como o íon mais estável com 100% de intensidade. As demais fragmentações ocorrem pela perda do grupo CHO formando o íon $m/z=197$ e posteriormente pela perda do mesmo grupo formando o íon $m/z=168$.

No espectro de RMN ^1H , obtido em DMSO $[\text{d}_6]$, observa-se um dublete em 8.17 ppm referente a 1 H aromático (CH-8) com constante de acoplamento orto $J=7.9\text{ Hz}$. Na sequência observa-se um dublete em 8.09 ppm referente a 1 H aromático (CH-1) com constante de acoplamento orto $J=8.9\text{ Hz}$. Em 7.84 ppm observa-se um triplete de CH aromático (CH-6) e em 7.60 ppm observa-se um dublete referente a 1 H aromático (CH-5) com constante de acoplamento orto $J=8.4\text{ Hz}$. Em 7.46 ppm observa-se um triplete referente a 1 H aromático (CH-7) com constante de acoplamento orto $J=7.7\text{ Hz}$ e em 7.13 ppm observa-se um dublete referente a 1 H aromático (CH-4) com constante de acoplamento meta $J=2.0\text{ Hz}$. Ainda na região de prótons aromáticos observa-se um duplo dublete em 7.04 ppm referente a 1H (CH-2) com constante de acoplamento orto e meta $J=8.6$ e 2.2 Hz , respectivamente. Na região de campo mais alto observa-se um singlete em 3.93 ppm referente aos 3 H do grupo metoxila.

No espectro de RMN ^{13}C verifica-se a presença da carbonila em 174.9 ppm e 5 carbonos quaternários em 164.9 ppm (Cq-3); 157.9 ppm (Cq-4a); 155.6 ppm (Cq-4b); 121.2 ppm (Cq-8a) e 114.9 ppm (Cq-8b). Pode-se observar a presença de 7 carbonos CH

aromáticos em 135.0 ppm (CH-6); 127.6 ppm (CH-1); 125.9 ppm (CH-8); 124.3 ppm (CH-7); 117.9 ppm (CH-5); 113.6 ppm (CH-2) e 100.5 ppm (CH-4). O espectro mostra também o grupo metoxila em 56.2 ppm caracterizando assim a estrutura da 3-metóxi-Xantona (**22**).

4.4.4.2 – Síntese da 3-hidróxi-Xantona (**23**)

A partir da 3-metoxi-xantona (**22**) foi feita a reação com HBr, onde o éter alifático (grupo metoxila) reagiu com o próton do ácido formando o íon oxônio, para posteriormente, via substituição nucleofílica de segunda ordem, o brometo agir como nucleófilo formando os respectivos grupos hidroxila no anel da xantona e CH_3Br livre [Solomons, 1996].

Os dados espectroscópicos e espectrométricos deste composto foram obtidos para a confirmação da estrutura, sendo anteriormente sintetizado [Lin et al, 1993], conforme descritos na parte experimental.

4.6 – Resultados Biológicos

4.6.1 - Atividade Antibacteriana

A partir de estudos anteriores realizados com a xantoxilina, os quais mostraram que esta molécula exibe atividade contra algumas bactérias entéricas, tais como *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* [Godoy, 1991], foram realizados testes de alguns dos derivados sintetizados contra os microorganismos *Klebsiella axytocia*, *Proteus mirabillis*, *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aerogilosia*, citados anteriormente no Capítulo 3 – Procedimentos Experimentais, item 3.6.1.1.

Todas as bactérias foram resistentes aos derivados (**4a**, **7a**, **7b** e **7c**), testados nas doses de 100 e 200 µg/mL, mostrando que estes compostos não apresentaram nenhuma atividade antibacteriana nas doses citadas.

Estes resultados indicam que, se somente a xantoxilina exibe atividade antibacteriana e os derivados testados não apresentaram tal atividade, possivelmente o mecanismo de ação pode estar ligado ao grupo hidroxila livre na estrutura da xantoxilina, que não está disponível nos derivados testados. Outra hipótese seria que os derivados testados possuem um efeito estérico bastante distinto da molécula da xantoxilina que poderia impedir sua ligação aos sítios receptores deste tipo de atividade.

4.6.2 - Atividade Antifúngica

Para avaliação da atividade antifúngica no método de diluição em ágar, os derivados da xantoxilina que apresentaram concentrações abaixo de 100 µg/mL foram incorporados ao meio de crescimento, de acordo com o procedimento descrito por Mitscher [Mitscher et al, 1972].

Compostos com CIMs < 100 µg/mL em quaisquer dos fungos testados foram considerados ativos.

Nenhum dos compostos testados, exceto a própria xantoxilina, exibiu atividade antifúngica contra as leveduras *Candida albicans*, *C. tropicalis*, *Saccharomyces cereviseae* ou *Cryptococcus neoformans*, nem contra os fungos filamentosos, tais como *Aspergillus niger*, *A. fumigatus* ou *A. flavus* até 100 µg/mL. A xantoxilina foi ativa contra *C. neoformans* e *A. fumigatus* com CIMs de 50 e 75 µg/mL, respectivamente.

Embora as modificações estruturais não tenham melhorado a ação biológica da xantoxilina contra fungos leveduriformes e filamentosos, alguns destes compostos apresentaram respostas biológicas distintas contra fungos dermatófitos (Tabela 7).

Tabela 7 - Concentração Inibitória Mínima – CIM ($\mu\text{g/mL}$) da atividade antifúngica dos derivados da xantoxilina contra fungos dermatófitos.

Composto	<i>Microsporum canis</i>	<i>Microsporum gypseum</i>	<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	<i>Trichophyton rubrum</i>	<i>Epidermophyton floccosum</i>
(1)	> 100	> 100	50	75	> 100
(4a)	75	50	20	75	75
(7a)	> 100	> 100	> 100	> 100	> 100
(7b)	> 100	> 100	> 100	> 100	> 100
(7c)	> 100	> 100	40	6,25	12,5
Cetoconazol	15	6.26	12.5	15	15
Anfoterin B	30	6.25	6.25	25	0.3

Um resultado interessante foi o apresentado pelo composto **(4a)**, um análogo benzofurânico que apresentou potente atividade analgésica e anti-inflamatória [Cechinel Filho, 1996b; Vaz, 1996]. Ele foi ativo contra *M. canis*, *M. gypseum*, *T. mentagrophytes*, *T. rubrum* e *E. floccosum*, com valores de CIMs de 75, 50, 20, 75 e 75 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente. Entretanto, quando comparamos este composto aos antifúngicos utilizados no mercado, tais como Cetoconazol (PM = 531.43 g/mol) e Anfoterina B (PM = 924.09 g/mol), primeiramente faz-se necessária a transformação de valores de CIM de $\mu\text{g/mL}$ para mmol/mL, conforme demonstrado na Tabela 8.

Tabela 8 - Concentração Inibitória Mínima – CIM (mmol/mL) da atividade antifúngica dos derivados da xantoxilina contra fungos dermatófitos.

Composto	<i>Microsporum canis</i>	<i>Microsporum gypseum</i>	<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	<i>Trichophyton rubrum</i>	<i>Epidermophyton floccosum</i>
(1)	-	-	255,1	382,6	-
(4a)	200,0	133,3	53,3	200,0	200,0
(7c)	-	-	105,0	16,4	32,8
Cetoconazol	28,2	11,8	23,5	28,2	28,2
Anfoterin B	32,46	6,76	6,76	27,1	0,32

Observa-se deste modo, que o composto **(4a)** não é equipotente aos antifúngicos de mercado, uma vez que a concentração molar é muito maior para atingir o mesmo efeito.

Já os derivados benzenossulfonílicos **(7a-f)** também mostraram resultados promissores. O composto **(7c)**, o qual contém um grupo nitro em posição *para* no anel aromático, foi o composto mais ativo testado até o presente. Os outros derivados testados **(7a e 7b)** não mostraram inibição abaixo de 100 $\mu\text{g/mL}$. Os valores de CIM para o derivado **(7c)**, contra *T. mentagrophytes*, *T. rubrum* e *E. floccosum* foram 40; 6,25 e

12,5 µg/mL, respectivamente. Ele foi 2,4 vezes mais potente que seu protótipo, a xantoxilina **(1)**, contra *T. mentagrophytes* (CIMs: 105,0 vs 255,1 mmol/mL) e 23,3 vezes mais potente contra *T. rubrum* (CIMs: 16,4 vs 382,6 mmol/mL). Mais do que a comparação com seu protótipo, **(1)**, o derivado **(7c)** foi mais ativo que os antifúngicos utilizados na clínica atual contra *T. rubrum*, sendo 1,7 vezes mais potente que o Cetoconazol e 1,65 vezes mais potente que a Anfotericina B. Embora os grupamentos nitro sejam raros em produtos naturais, ele está presente em vários fármacos sintéticos, clinicamente usados como bactericidas e fungicidas, como por exemplo metronidazole e nitrofurantoin [Hof, 1988].

Considerando a atividade mostrada até aqui e a possibilidade de obter diferentes modificações estruturais, fica evidente que o composto **(7c)** pode ser escolhido para o futuro desenvolvimento de compostos antifúngicos mais potentes e seletivos, mesmo porque existem poucas opções terapêuticas que não apresentem efeitos secundários.

A fim de determinar o modo de ação antifúngica dos derivados da xantoxilina, foram avaliados os resultados dos testes no modelo *N. crassa* (Tabela 9). Os compostos **(4a e 7c)** mostraram uma zona turva ao redor dos discos de papel, sugerindo que os seus modos de ação contra dermatófitos estão associados com a inibição da síntese das paredes poliméricas celulares [Zacchino, 1998].

Tabela 9 – Avaliação in vitro do modo de ação dos derivados da xantoxilina no modelo *Neurospora crassa*.

Composto	Tipo de zona de inibição	Halo de inibição (mm)
(1)	Turvo	7
(4a)	Turvo	12
(7c)	Turvo	11
Cilofungin	Turvo	21
Miconazol	Claro	25

Sabe-se que os dermatófitos são grupos de fungos que causam infecções nas superfícies queratinizadas do corpo, e que estes também são muito comuns em países tropicais [Cáceres, 1991; Zacchino, 1997; Rai, 2003]. Considerando o fato de **(1)**, um composto extraído de plantas brasileiras, e seus derivados possuírem atividade contra dermatófitos, e não contra outros tipos de fungos, existe a possibilidade, no futuro, da descoberta de um novo fármaco em potencial com ação antifúngica tópica e também específica para doenças de pele de regiões tropicais. Outro fator muito importante é de

que estes derivados, atuando diretamente sobre as paredes celulares dos fungos, mostram-se não tóxicos para os humanos.

Estes resultados demonstram que **(1)**, o principal constituinte isolado de *S. schottiana*, pode ser usado como um modelo para alcançar compostos antifúngicos mais potentes, especialmente contra fungos dermatófitos, tornando-se um ponto de partida para a síntese de novos quimioterápicos antifúngicos.

Já para a avaliação da atividade antifúngica no método de diluição em ágar, os derivados das xantonas que apresentaram concentrações abaixo de 250 µg/mL foram incorporados ao meio de crescimento, de acordo com o procedimento descrito por Mitscher [Mitscher et al, 1972].

Os compostos com CIMs < 250 µg/mL em quaisquer dos fungos testados foram considerados ativos.

Nenhuma das metil-xantonas testadas exibiu atividade antifúngica contra as leveduras *Candida albicans*, *C. tropicalis* ou *Saccharomyces cerevisiae*, nem contra os fungos filamentosos, tais como *Aspergillus fumigatus*, *A. flavus* ou *A. niger* até 250 µg/mL.

As metil xantonas foram ativas (Tabela 10) somente contra o fungo leveduriforme *Cryptococcus neoformans* com CIMs iguais de 125 µg/mL, para 2 e 3-metil xantonas.

Tabela 10 - Concentração Inibitória Mínima – CIM (µg/mL) da atividade antifúngica de Metil-Xantonas contra fungos leveduriformes.

Xantonas	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida tropicalis</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>Cryptococcus neoformans</i>
(14)	> 250	> 250	> 250	250
(15)	> 250	> 250	> 250	125
(16)	> 250	> 250	> 250	125
(17)	> 250	> 250	> 250	250

Observa-se novamente que os resultados mais importantes desta série foram demonstrados contra fungos dermatófitos, e não contra os outros tipos de fungos testados, enfatizando-se a possibilidade de encontrar um antifúngico tópico específico para doenças de pele das regiões tropicais.

Assim, os resultados apresentados pelos compostos **(16 e 17)** (Tabela 11) indicam interessantes efeitos antimicobacteriais [Pickert, 1998b], sendo que estes compostos foram muito ativos contra todos os fungos dermatófitos testados.

Tabela 11 - Concentração Inibitória Mínima – CIM ($\mu\text{g/mL}$) da atividade antifúngica de Metil-Xantonas contra fungos dermatófitos.

Composto	<i>Microsporum canis</i>	<i>Microsporum gypseum</i>	<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	<i>Trichophyton rubrum</i>	<i>Epidermophyton floccosum</i>
(14)	> 250	> 250	> 250	> 250	> 250
(15)	> 250	250	250	> 250	> 250
(16)	6.25	12.5	6.25	6.25	12.5
(17)	25	25	25	25	25
Cetoconazol	15	6.26	12.5	15	15
Anfotericin B	30	6.25	6.25	25	0.3

Entretanto, quando comparamos estes dois compostos aos antifúngicos utilizados na clínica atual, tais como Cetoconazol (PM = 531.43 g/mol) e Anfotericina B (PM = 924.09 g/mol), primeiramente faz-se necessária a transformação de valores de CIM de $\mu\text{g/mL}$ para mmol/mL, conforme demonstrado na Tabela 12.

Tabela 12 - Concentração Inibitória Mínima – CIM (mmol/mL) da atividade antifúngica de Metil-Xantonas contra fungos dermatófitos.

Composto	<i>Microsporum canis</i>	<i>Microsporum gypseum</i>	<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	<i>Trichophyton rubrum</i>	<i>Epidermophyton floccosum</i>
(16)	29,8	59,5	29,8	29,8	59,5
(17)	119,0	119,0	119,0	119,0	119,0
Cetoconazol	28,2	11,8	23,5	28,2	28,2
Anfotericin B	32,46	6,76	6,76	27,1	0,32

Assim, pode-se observar que o composto **(16)** é praticamente equipotente ao Cetoconazol contra os fungos *M. canis* e *T. rubrum*. Já o composto **(17)** não é equipotente aos antifúngicos de mercado, uma vez que a sua concentração molar é muito maior para atingir o mesmo efeito.

Os resultados apresentados para o composto **(16)** indicam que os efeitos estéricos podem ser os principais responsáveis pela atividade antifúngica apresentada, uma vez que os demais efeitos eletrônicos (indutivo doador) e hidrofóbicos permanecem semelhantes para a série de xantonas. Entretanto para que se confirme esta hipótese seria necessário a realização dos testes com vários outros substituintes tais como etila, terc-butila, etc. Dependendo dos resultados obtidos nestes testes poder-se-ia aplicar estudos de correlação com os diferentes grupos substituintes ora sintetizados com grupamentos diferentes tais como 3-COOH; 3-OCH₃; 3-OH e composto **(13)**.

Observa-se assim que a posição do substituinte metil no anel da xantona tem grande importância na atividade antifúngica contra fungos dermatófitos, demonstrando

que os efeitos físico-químicos (efeitos eletrônicos, hidrofóbicos e estéricos) podem modificar substancialmente as propriedades antifúngicas dos compostos aos quais estes estão incorporados.

4.6.3 - Atividade Antinociceptiva

Apesar do progresso ocorrido atualmente no desenvolvimento de potentes e eficazes analgésicos, ainda existe a necessidade de se encontrar fármacos específicos para o tratamento de dores crônicas, pois até hoje o mais importante analgésico utilizado na clínica continua sendo o alcalóide morfina [Calixto et al, 2000].

Estudos realizados anteriormente utilizando a xantoxilina como protótipo, possibilitaram a obtenção de derivados farmacologicamente ativos. Alguns derivados apresentaram promissores efeitos analgésicos, antiedematogênicos e antialérgicos [Cechinel et al, 1996b; Vaz et al, 1996; Radl et al, 2000], sendo mais potentes do que vários fármacos utilizados na clínica, tais como aspirina, acetaminofeno, indometacina e ibuprofeno.

Continuando esta linha de pesquisa, foram sintetizados novos derivados com potencial para estudos de correlação e atividade, avaliando novamente a atividade farmacológica em relação aos efeitos analgésicos demonstrados anteriormente, utilizando para este fim o modelo de dor induzido pela formalina, onde neste modelo pode-se visualizar duas fases de sensibilidade à dor, a primeira de origem neurogênica, e a segunda chamada de fase inflamatória [Hunskar et al, 1987].

O resultado da atividade analgésica é demonstrado através da Inibição Máxima (IM), expressa em %, sendo que para os compostos que apresentaram uma IM > 50% é calculada a sua Concentração Inibitória (CI_{50}), dose esta que causa 50% de inibição na resposta biológica em questão.

Conforme os modelos descritos para estudos da Química Medicinal, utilizam-se os valores de DI_{50} expressos em $\mu\text{mol/kg}$ para os estudos de correlação entre estrutura química e atividade farmacológica. Pode-se observar na Tabela 13 que alguns dos derivados da xantoxilina não apresentaram IM superior a 50%, sendo estes descartados dos estudos de correlação. Verifica-se assim que, mesmo que utilizemos o modelo manual proposto por Topliss para estudos de correlação, muitas vezes os compostos contendo os 5 substituintes indicados não apresentaram IM superior a 50% para que sejam feitos os estudos de correlação.

Tabela 13 - Efeito analgésico dos derivados da xantoxilina no modelo de dor induzido pela Formalina, 1ª fase (0-5 min) e 2ª fase (15 - 30 min), em camundongos, via i.p. (1-120 mg/kg).

Composto	Primeira Fase		Segunda Fase	
	CI ₅₀ (mg/kg)	IM (%)	CI ₅₀ (mg/kg)	IM (%)
(4a)	21 (12 – 38) ^a	-	3 (2 – 4) ^a	-
(5)	19.87 (13.68 – 28.87)	54.57 ± 3.1	12.15 (9.2 – 16.05)	92.76 ± 4.5
(4b)	36.3 (28.0 – 47.07)	53.05 ± 3.62	45.27 (29.8 – 68.77)	50.53 ± 10.12
(4c)	-	40.89 ± 3.44	18.21 (10.97 – 30.23)	75.64 ± 10.4
(7a)	-	31.13 ± 2.71	16.12 (11.7 – 22.09)	70.35 ± 6.85
(7b)	92.02 (64.55 – 131.19)	52.54 ± 3.86	33.66 (19.45 – 58.24)	66.24 ± 10.33
(7c)	-	36.06 ± 4.63	24.07 (18.33 – 31.62)	73.34 ± 8.34
(7d)	-	35.43 ± 2.74	21.63 (15.41 – 30.36)	61.82 ± 9.42
(7f)	-	0	-	28.68
(9)	-	40.67	-	25.32
(10b)	-	37.12	-	34.22
(10c)	176 (107 – 290) ^a	-	74 (56 – 100) ^a	-

^a = Dados obtidos da Tese de Doutorado de Valdir Chechin Filho (1995).

Entretanto para que possamos comparar potência devemos transformar as Concentrações Inibitórias em mg/kg para Doses Inibitórias em mmol/kg, sendo que os compostos que não apresentaram valores de IM > 50% foram descartados (Tabela 14).

Tabela 14 - Efeito analgésico dos derivados da xantoxilina no modelo de dor induzido pela Formalina, 1ª fase (0-5 min) e 2ª fase (15 - 30 min), em camundongos, via i.p. (1-120 mmol/kg).

Compostos	PM (g/mol)	Primeira Fase	Segunda Fase
		DI ₅₀ (mmol/kg)	DI ₅₀ (mmol/kg)
(4a)	375	56,0	8,0
(5)	377	52,7	32,2
(4b)	296	122,6	152,9
(4c)	326	-	55,86
(7a)	366	-	44,04
(7b)	415	221,7	81,11
(7c)	381	-	63,18
(7d)	350	-	61,80
(10c)	364	483,5	203,3

Como pode ser notado na Tabela 14, para os derivados benzofurânicos podemos verificar que o composto mais ativo foi o próprio **(4a)** em ambas fases de dor. O composto **5** teve um melhor efeito na segunda fase com DI_{50} de 32,23 mmol/kg quando comparado com a primeira fase com DI_{50} de 52,7 mmol/kg, sugerindo que este composto possa ter inibido o edema da pata associado à fase inflamatória. Estes resultados também indicam que as mudanças feitas na estrutura do composto **(4a)** levaram a uma diminuição da atividade analgésica neste modelo de dor corroborando com os resultados de atividade analgésica obtidos para estes compostos no modelo de contorções abdominais causadas pelo ácido acético [Cechinel, 1995a].

A comparação destes resultados sugere que, tanto a mudança do substituinte bromo na posição 4, como a redução do grupo carbonila formando uma hidroxila no derivado benzofurânico **(4a)** são importantes grupos farmacofóricos para este tipo de efeito biológico. Pode-se observar que mesmo realizando os testes com mecanismos de ação em distintos modelos de dor, o(s) receptore(s) em questão provavelmente ligam-se aos mesmos grupos farmacofóricos citados acima.

Ainda considerando a Tabela 14, observando os derivados benzenossulfonílicos, as DI_{50} encontradas para a segunda fase de dor foram de 44,04; 81,11; 63,18 e 61,80 mmol/kg para os derivados **(7a)** (4-OCH₃); **(7b)** (4-Br); **(7c)** (4-NO₂) e **(7d)** (4-CH₃), respectivamente. Esta série, apesar de apresentar vários substituintes diferentes dos indicados por Topliss, foi a escolhida para os estudos de correlação, como será visto posteriormente.

Para a série dos derivados benzílicos, somente obteve-se resultados de 2 dos derivados, **(10b)** (4-CH₃) e **(10c)** (4-Br), sendo que estes resultados demonstraram que esta série é a que apresentou a menor potência no modelo testado, mesmo quando um dos substituintes é o bromo.

A redução da carbonila no composto **(4a)** formando um grupo hidroxila foi feita com o intuito de inserir um grupo hidrossolúvel neste composto, para que o mesmo demonstrasse uma equipotente atividade analgésica via oral, uma vez que a maioria dos fármacos utilizados na clínica atual são administrados por esta via. Assim, o composto **(5)**, entre outros, foi testado via oral (Tabela 15).

Tabela 15 - Efeito analgésico dos derivados da xantoxilina no modelo de dor induzido pela Formalina, 1ª fase (0-5 min) e 2ª fase (15 - 30 min), em camundongos, via oral (100 - 400 mg/kg).

Composto	Primeira Fase		Segunda Fase	
	CI ₅₀ (mg/Kg)	IM (%)	CI ₅₀ (mg/Kg)	IM (%)
(5)	-	41.93 ± 1.49	179.56 (121.37 – 256.64)	58.36 ± 8.2
(4b)	249.26 (153.07 – 405.98)	52.83 ± 6.82	222.48 (175.99-281.25)	59.92 ± 9.48
(4c)	-	44.64 ± 4.72	-	45.25 ± 16.08
(7a)	-	30.59 ± 9.02	203.42 (160.32 – 258.11)	52.86 ± 15.13
(7b)	-	41.23 ± 4.99	254.86 (158.34 – 410.20)	55.33 ± 10.21
(7c)	-	42.56 ± 5.44	263.33 (190.9 – 363.25)	57.13 ± 11.72
(7d)	-	37.67	-	16.15
(7e)	-	38.67	-	10.42

Entretanto para que possamos comparar potência devemos transformar as Concentrações Inibitórias em mg/kg para Doses Inibitórias em mmol/kg, sendo que os compostos que não apresentaram valores de IM > 50% foram descartados (Tabela 16).

Tabela 16 - Efeito analgésico dos derivados da xantoxilina no modelo de dor induzido pela Formalina, 1ª fase (0-5 min) e 2ª fase (15 - 30 min), em camundongos, via oral (100 - 400 mmol/kg).

Compostos	PM (g/mol)	Primeira Fase	Segunda Fase
		DI ₅₀ (mmol/kg)	DI ₅₀ (mmol/kg)
(5)	377	-	476,3
(4b)	296	842,1	751,6
(7a)	366	-	555,8
(7b)	415	-	614,1
(7c)	381	-	691,2

A partir dos resultados apresentados na Tabela 16, quando comparados a Tabela 14 mostram que a Inibição Máxima via i.p. para a segunda fase é muito maior que por via oral, significando que a mudança proposta, apesar de aumentar a hidrossolubilidade da molécula, não foi suficiente para apresentar o mesmo resultado analgésico.

Sabendo-se que os resultados obtidos por via i.p. são mais potentes devido a pouca influência dos fatores farmacocinéticos, os resultados da tabela 16 são coerentes devido a alteração da via de administração, pois todos os derivados reduziram o efeito nesta via.

Comparativamente aos resultados da série dos derivados benzeno sulfonílicos, somente o derivado **(7d)** não demonstrou inibição compatível ao seu efeito via i.p., sendo que o mesmo nem apresentou DI₅₀, impossibilitando os estudos de correlação nesta via

de administração, e consequentemente impedindo a comparação com os resultados obtidos.

4.6.4 - Atividade Antiparasitária

O Mal de Chagas, causado pelo protozoário *Trypanosoma cruzi*, bem como a Leishmaniose, doença causada pelo protozoário *Leishmania amazonensis* ainda hoje são doenças tipicamente brasileiras. Apesar da importância socio-econômica para estas doenças tropicais, não existe o interesse da indústria farmacêutica em desenvolver vacinas eficazes para estes tipos de doenças. Também a maioria dos fármacos utilizados hoje no mercado, desenvolvidos há várias décadas, mostram eficácia variável, apresentando vários efeitos colaterais, são caros, requerem um tratamento de longo prazo e podem apresentar ou induzir a resistência dos parasitas, entre outros [Lunardi et al, 2003].

Assim, devido à indução de efeitos citotóxicos apresentados pelas xantonas quando as mesmas foram testadas como analgésicas e anti-inflamatórias, bem como de conhecidos efeitos citotóxicos de xantonas [Abou-Shoer et al, 1998], lançou-se mão dos testes antiparasitários disponíveis para avaliar efeitos similares, como pode ser visto na Tabela 17.

Tabela 17 - Efeito das xantonas no crescimento de formas promastigotas de *Leishmania amazonensis* (Concentração Inibitória de 50% expressa em µg/mL).

Compostos	<i>Leishmania amazonensis</i> . (x10 ⁶ /mL)	
	CI ₅₀ (µg/mL)	IM (%)
(13)	317.6	87 ± 2
(17)	235.9	90 ± 1
(18)	408.2	54 ± 6
(19)	228.5	76 ± 4
(20)	403.8	56 ± 8
(21)	320.7	74 ± 3
(22)	180.2	85 ± 4

A atividade antiparasitária das xantonas foi avaliada, onde todos os compostos testados apresentaram atividade antiparasitária, isto é, todas as xantonas testadas contra formas promastigotas (presentes na corrente sanguínea) apresentaram pronunciado efeito antiparasitário, demonstrando que estes compostos podem ser de grande interesse na doença de Leishmaniose. Os testes foram conduzidos tendo como

controles o branco (ausência de fármacos) e na presença de fármacos utilizados no mercado tais como benznidazole (50 µg/mL) ou Anfotericina B (50 ng/mL).

A avaliação da inibição máxima nos permite identificar qual composto demonstrou maior eficácia contra o protozoário testado, entretanto para comparar a sua potência teremos que transformar a Concentração Inibitória de µg/mL para a Dosagem Inibitória em mmol/mL, conforme demonstrado na Tabela 18.

Tabela 18 - Efeito das xantonas no crescimento de formas promastigotas de *Leishmania amazonensis* (Dosagem Inibitória de 50% expressa em mmol/mL).

Compostos	PM (g/mol)	<i>L. amazonensis</i> . (x10 ⁶ /mL) DI ₅₀ (mmol/mL)
(13)	196	1620,4
(17)	210	1123,3
(18)	240	1700,8
(19)	240	952,1
(20)	240	1682,5
(21)	240	1336,3
(22)	226	797,3

Assim, podemos afirmar que o composto mais eficaz foi a xantona **(17)** com uma IM de 90% (Tabela 17). Entretanto quando avalia-se a potência demonstrada por esta série de compostos, verifica-se que a xantona mais potente foi a **(22)** (3-OCH₃), que apresentou uma DI₅₀ de 797,3 mmol/mL (Tabela 18).

Também, pela comparação de potência, observa-se que o segundo composto mais potente desta série foi o composto **(19)** (3-COOH), sendo que substituintes na posição 3 desta série, quer sejam doadores ou receptores de elétrons apresentaram resultados importantes na inibição do protozoário, demonstrando que esta série apresenta promissora atividade Leishmanicida.

Na Tabela 19, pode-se verificar que as mesmas xantonas foram testadas contra a inibição do crescimento de formas epimastigotas (presentes nos tecidos) de *T. cruzi*, não apresentando inibição significativa, com exceção do composto **(17)** que apresentou 70% de inibição, demonstrando que estes compostos parecem ser seletivos para a inibição alguns tipos de cepas de *Leishmania amazonensis*.

Tabela 19 - Efeito das xantonas no crescimento de formas epimastigotas de *Trypanosoma cruzi* (Concentração Inibitória de 50% expressa em µg/mL).

Compostos	<i>Trypanosoma cruzi</i> (x10 ⁶ /mL)	
	CI ₅₀ (µg/mL)	IM (%)
(13)	≅ 500	50 ± 5
(17)	319.1	70 ± 8
(18)	-	26 ± 11
(19)	-	12 ± 11
(20)	-	31 ± 5
(21)	-	29 ± 11
(22)	-	38 ± 7

4.6.5 - Correlação Estrutura-Atividade

Nos capítulos anteriormente demonstrou-se a síntese e a atividade analgésica da série dos derivados benzeno sulfonílicos. Dentro desta série foram obtidas respostas farmacológicas que possibilitaram a realização de um estudo de correlação estrutura-atividade usando o método proposto por Topliss. Apesar da série apresentar vários substituintes diferentes dos indicados por Topliss, os resultados apresentados nos permitem fazer este tipo de correlação.

Assim, a tabela 20 abaixo foi apresentada com os resultados de DI₅₀ em mmol/kg, sendo esta última a unidade de concentração utilizada para este fim.

Tabela 20 – Resultados de DI₅₀ para os derivados benzeno sulfonílicos.

Composto	Derivado	CI ₅₀ (mg/Kg)	PM (g/mol)	DI ₅₀ (mmol/kg)	Log 1/DI ₅₀
(7a)	4-OCH ₃	16.12	366	44.044	1.356
(7b)	4-Br	33.66	415	81.108	1.091
(7c)	4-NO ₂	24.07	381	63.176	1.199
(7d)	4-CH ₃	21.63	350	61.801	1.209

Aplicando-se o Método Manual de Topliss, foram obtidos os resultados apresentados na Tabela 21, onde a ordem de atividade segue a ordem crescente de potência, expressa em Log 1/DI₅₀, onde os parâmetros com melhor correlação são $\pi + \sigma$, como pode ser observado pelos valores de R².

Tabela 21 – Ordem de potência dos derivados da xantoxilina expressos em Log 1/DI₅₀

Subst.	Log 1/DI ₅₀	π	σ	$\pi - \sigma$	$2\pi - \sigma$	$\pi - 2\sigma$	$\pi - 3\sigma$	$-\sigma$	$\pi + \sigma$	$2\pi - \pi^2$
4-OCH ₃	1,356	-0.02	-0.27	0.25	0.23	0.52	0.79	0.27	-0.29	-0.04
4-CH ₃	1,209	0.56	-0.17	0.73	1.29	0.90	1.07	0.17	0.39	0.81
4-NO ₂	1,199	0.78	0.23	-1.06	-1.34	-1.84	-2.62	-0.78	0.50	-0.64
4-Br	1,091	0.23	0.78	0.57	1.49	0.40	1.55	-0.23	1.09	0.98
R ²	-	0,15	0,77	0,007	0.11	0.01	0.005	0.245	0.995	0.239

No gráfico a seguir pode-se observar a melhor correlação obtida.

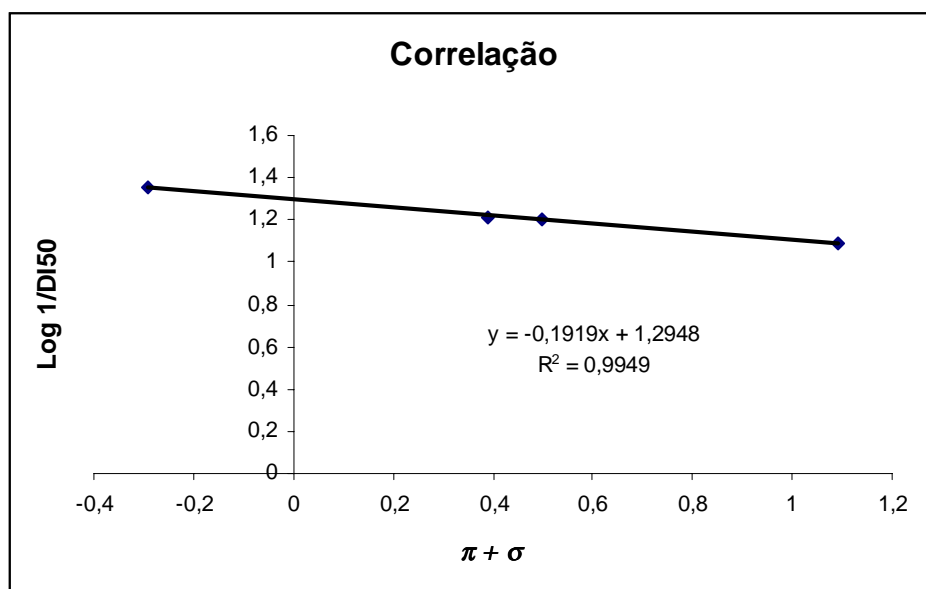


Gráfico 1 – Coeficiente de Correlação de Log 1/DI₅₀ & $\pi + \sigma$

De acordo com o método proposto por Topliss, apresentado no Capítulo 3, o mesmo indica os novos substituintes, observando-se que a melhor correlação é obtida com parâmetros $\pi + \sigma$, sendo que os substituintes mais apropriados seriam: 3-CF₃; 4-Cl; 4-NO₂; 4-CF₃; 2,4-Cl₂; 4-C₅H₉; 4-C₆H₉ (vide Capítulo 3 – Procedimento Experimental - Tabela 4). Estes substituintes indicam que tanto a hidrofobicidade, como os efeitos eletrônicos dos grupos retiradores de elétrons do anel aromático são fatores fundamentais para modificar a atividade farmacológica destes derivados e propiciar a síntese de novos compostos.

Entretanto, pode-se observar que o composto mais ativo possui substituinte 4-OCH₃, (DI₅₀ = 44,044 mmol/kg), sendo que o segundo composto mais ativo desta série é

o composto 4-CH₃ .(DI₅₀ = 61,801 mmol/kg). Uma possível explicação para este fato pode ser dada pela não utilização dos substituintes sugeridos por Topliss, onde os mesmos deveriam ser todos sintetizados e testados. Outra possibilidade seria sintetizar, pelo menos 2 novos compostos com substituintes doadores de elétrons, para poder fazer uma nova correlação. Só assim o método de Topliss poderá ser utilizado para indicar novos substituintes.

5- CONCLUSÕES

Os resultados obtidos no presente trabalho permitem concluir que:

- 1) Foram preparados, purificados e caracterizados por técnicas espectroscópicas e espectrométricas 37 compostos, dentre os quais 14 são intermediários de síntese e 23 são os produtos finais.
- 2) Utilizando-se uma das ferramentas mundiais mais atualizadas em termos de buscas, que é o banco de dados SciFinder por desenho de estruturas químicas, verificou-se que muitos dos compostos sintetizados a partir de **(1)**, são inéditos na literatura até o presente, tais como: **(5, 6, 7a, 7b, 7c, 7e, 7f, 8, 9 e 10e)**.
- 3) Os derivados testados da série dos benzofurânicos e benzeno sulfonílicos não apresentaram atividade antibacteriana nas doses indicadas demonstrando que a continuidade nesta linha de pesquisa não é de interesse para os derivados sintetizados. Estes resultados indicam que, se somente **(1)** exibe atividade antibacteriana, possivelmente o mecanismo de ação pode estar ligado ao grupo hidroxila livre na estrutura de **(1)**, que não está disponível nos derivados testados. Outra hipótese seria que os derivados testados possuem um efeito estérico bastante distinto da molécula de **(1)**, que poderia impedir sua ligação aos sítios receptores deste tipo de atividade.
- 4) O derivado **(7c)**, quando testado contra fungos dermatófitos, foi mais potente que alguns fármacos utilizados na clínica atual tais como Cetoconazol e Anfotericina B, sendo que este composto poderia ser escolhido para o futuro desenvolvimento de antifúngicos tópicos e também específicos para doenças de pele de regiões tropicais.
- 5) Outro fator muito importante que foi evidenciado no ensaio de *N. crassa* é que os derivados **(4a e 7c)** atuam diretamente sobre as paredes celulares dos fungos, mostrando-se específicos e não tóxicos ao homem.
- 6) As xantonas também apresentaram atividade contra fungos dermatófitos, especialmente o composto **(16)**, sendo observado que a posição do substituinte metil no anel das xantonas tem vital importância neste tipo de atividade, demonstrando que os parâmetros físico-químicos podem modificar substancialmente as respostas biológicas desta série de compostos.

7) Os derivados benzofurânicos e benzeno sulfonílicos, quando testados como analgésicos no modelo da formalina em camundongos, exibiram maior atividade na segunda fase de dor, inibindo o edema da pata associado à fase inflamatória, demonstrando que os derivados testados devem interferir na liberação dos mediadores químicos relacionados a esta fase. Os resultados apresentados mostram também que a inibição máxima via intraperitoneal para a segunda fase de dor é maior quando comparada a via oral devido a pouca influência dos fatores farmacocinéticos encontrados nesta via.

8) Em relação a atividade antiparasitária demonstrada pelas xantonas, pode-se concluir que as mesmas são eficazes na inibição do crescimento de formas promastigotas de cepas de *Leishmania amazonensis*, uma vez que xantonas com grupos tanto doadores como retiradores de elétrons do anel aromático apresentaram inibições significativas.

9) Para as formas epimastigotas de *T. cruzi*, as xantonas foram praticamente inativas demonstrando que estes compostos são seletivos na inibição do crescimento de diversos tipos de protozoários.

10) Os estudos de correlação obtidos pelo método manual de Topliss foram inconclusivos para definir a síntese de novos substituintes.

5.1 – Sugestões para a continuidade do Trabalho

A partir dos resultados obtidos no presente trabalho, coloca-se aqui as sugestões de continuidade do mesmo nas seguintes linhas de pesquisa:

- 1) Devido a expressiva atividade antifúngica demonstrada pelo composto **(7c)**, os derivados análogos das xantoxilina tais como **(8 e 9)**, ambos com substituinte 4-NO₂ deveriam ser testados contra os mesmos fungos, onde poderia avaliar se as modificações estruturais na molécula da acetofenona podem causar diferenças nas moléculas ora apresentadas, uma vez que ficou evidenciado que este compostos atua diretamente sobre as paredes celulares dos fungos.
- 2) Continuando a linha de pesquisa para a atividade antifúngica dos derivados das xantonas, onde **(16)** (3-CH₃) apresentou o resultado mais promissor em relação aos seus análogos da série das metil-xantonas, os demais derivados sintetizados tais como 3-carboxi; 3-metoxi; 3-hidroxi e a própria xantona sem substituição também deveriam ser testados. Conforme os novos resultados apresentados por estes substituintes, poder-se-ia realizar um novo estudo de correlação com os grupos já sintetizados.
- 3) Devido aos melhores resultados da atividade antiparasitária serem demonstrados por xantonas que apresentavam grupos substituintes na posição 3, as demais xantonas sintetizadas tais como 3-metil; 3-hidroxi; e 3-carboxi-xantona deveriam ser testadas em relação a inibição do crescimento de formas promastigotas de cepas de *Leishmania amazonensis*.

6 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABOU-SHOER, M; et al. Antitumour and Cytotoxic Xanthones of *Psorospermum febrifugum*. Phytochem., 27, 2795 (1998).
- AMARAL, A. T; et al. 25 years of Medicinal Chemistry in Brazil. Quim. Nova, 25, 39 (2002).
- ARANYOS, A; et al. Novel Electron-Rich Bulky Phosphine Ligands Facilitate the Palladium-Catalyzed Preparation of Diaryl Ethers. J. Am. Chem. Soc., 121, 4369 (1999).
- BARREIRO, E.J. A Importância da Síntese de Fármacos na Produção de Medicamentos. Quim. Nova, 14, 179 (1991).
- BAUER, A.W; et al. Antibiotic Susceptibility Yesting by a Standardized Single Method. Americ. J. Clin. Pathol., 45, 493 (1966).
- BENNETT, G.J; et al. Xanthones from Guttiferae Phytochem., 28, 967 (1989).
- BONINA, F; et al. In-vitro antioxidant and in-vivo photoprotective effect of three lyophilized extracts of *Sedum telephium* L. leaves. J. Pharm. Pharmacol., 52, 1279 (2000).
- BRODY, T.M; et al. Human Pharmacology – Molecular to Clinical, Second Edition (1995).
- BUCK, E; et al. Ullmann Diaryl Ether Synthesis: Rate Acceleration by 2,2,6,6-Tetramethylheptane-3,5-dione. Abstracts of Papers, 224 th ACS National Meeting, Boston, MA, USA, August, 18-22 (2002).
- CÁCERES, A; et al. Plants used in Guatemala for the treatment of dermatophytic infections 1. Screening for antimycotic activity of 44 plants extracts. J. Ethnopharmacol, 31, 263 (1991).
- CALIXTO, J.B., et al. Effects of *Sebastiania chottiana* Extracts on Isolated Smooth Muscle Contraction. Planta Med., 52, 444 (1986).
- CALIXTO, J.B., et al. Nonpeptide Bradykinin Antagonist. Ed. Marcel Dekker Inc., New York, 88 (1990).

CALIXTO, J.B., et al. The plants of the genus *Phyllanthus* as potential source of new drugs. *Ciência e Cultura* (São Paulo), 49, 422 (1997).

CALIXTO, J.B., et al. A Review of plants of the genus *Phyllanthus*: their chemistry, pharmacology and therapeutic potencial. *Med. Res. Rev.*, 18, 225 (1998).

CALIXTO, J.B., et al. Natural Occurring Antinociceptive Substances from Plants. *Phytother. Res.*, 14, 401 (2000).

CAMPOS, R.O.P; et al. Antinococeptive Properties of the Hydroalcoholic Extract and Preliminary Study of a Xanthone Isolated from *Polygala cyparissias* (Polygalaceae). *Life Sci.*, 61, 1619 (1997).

CAÑIGUERAL, S. La Fitoterapia: una terapéutica para el tercer milenio? *Revista de Fitoterapia*, 2, 101 (2002).

CARRARO, J.C; et al. Comparison of phytotherapy (Permixon) with finasteride in the treatment of benign prostate hyperplasia: A randomized international study of 1.098 patients. Pierre-Fabre Medicament, University Pierre and Marie Curie, Paris, FR. *Prostate* (New York), 29, 231 (1996).

CARVALHO, J.E. A chance de cura por um fio. *O Estado de São Paulo*, 08 de junho (1998).

CECHINEL FILHO, V. Modificação da estrutura molecular da xantoxilina e estudo da atividade farmacológica dos derivados. Dissertação de Mestrado, UFSC, Florianópolis-SC. (1991).

CECHINEL FILHO, V; et al. Aplicação do Método de Topliss para a Análise da Correlação entre Estrutura Química e Atividade Farmacológica de Derivados da Xantoxilina. *Quim. Nova*, 16, 189 (1993).

CECHINEL FILHO, V. Obtenção de Compostos Farmacologicamente Ativos a partir de Produtos Naturais. Correlação Estrutura Química – Atividade Biológica. Tese de Doutorado, UFSC, Florianópolis-SC (1995a).

CECHINEL FILHO, V; et al. Antispasmodic Activity of Xanthoxylene Derivatives: Structure-Activity Relationships. J. Pharm. Sci., 84, 473, (1995b).

CECHINEL FILHO, V; et al. Fungicide and Fungistatic effects of Xanthoxylene. J. Ethnopharmacol., 53, 171 (1996a).

CECHINEL FILHO, V; et al. Synthesis of Xanthoxylene Derivatives with Antinociceptive and Antioedematogenic Activities. Eur. J. Med. Chem., 31, 833 (1996b).

CECHINEL FILHO, V; et al. Estratégias para a obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais. Conceitos sobre modificação estrutural para otimização da atividade. Quim. Nova, 21, 99 (1998).

CHEMFINDER, <http://chemfinder.cambridgesoft.com> CAS [2243-42-7].

CHIARINI, A; Negative inotropic and chronotropic activity of calcium channel ligands possessing a xanthone 1,4-dihydropyridine backbone. Drug Res., 42, 797 (1992).

CHUNG,M.I; et al. Antiplatelet and Anti-inflammatory constituents and new oxygenated xanthenes from *Hypericum geminiflorum*. Planta Med., 68, 25 (2002).

CORTEZ, D.A.G; et al. Antibacterial activity of a biphenyl and xanthenes from *Kielmeyera coriacea*. Pharm. Biology, 40, 485 (2002).

DALL'ÁQUA, S; et al. Cytotoxic compounds from *Polygala vulgaris*. Chem. Pharm. Bulletin, 50, 1499 (2002).

DA RE, P; et al. Xanthone Derivatives, their preparation and use. United States Patent US5.516.794 (1996).

DAVE, K.G; et al. The Colouring Matters of the Wood of *Artocarpus integrifolia*: Part II – Artocarpetin, a New Flavone, & Artocarpone, a New Flavanone. J. Sci. Industr. Res., 19B, 470 (1960).

DHARMARATNE, H.R.W; et al. Inhibition of HIV-1 Reverse Transcriptase and HIV-1 Replication by *Calophyllum* coumarins and xanthenes. Planta Med., 68, 86 (2002).

EL SAYAH, M; et al. In vitro effects of the extract and the 1,7-dihydroxy-2,3-dimethoxy xanthone from *Polygala cyparissias* on the contractions induced by inflammatory mediators and ovalbumin in normal and actively sensitized trachea from guinea pig. Inflammation Res., 48, 218 (1999).

FERREIRA, M.M.C; et al. Variable selection in QSAR. Quim. Nova, 25, 439 (2002).

FISCHER, J; et al Timing of analog research in medicinal chemistry. Pharmazie, 56, 675 (2001).

GOBBI, S; et al. Synthesis and Antitumor Activity of new derivatives of Xanthe-9-one-4-Acetic Acid. J. Med. Chem., 45, 4931 (2002).

GODOY, G.F; et al. Antibacterial Activity of Xanthoxyline, Constituent of *Sebastiania schottiana*. Fitoterapia, LXII(3), 269 (1991).

GROVER, P.K; et al. Xanthones Part IV: A New Synthesis of Hydroxyxanthones and Hydroxybenzophenones. J. Sci. Ind. Res., India, 13, B, 3982 (1954).

GUPTA, S.P; et al. Studies on Hallucinogens. Chem. Rev. 83, 633 (1983).

HANSCH, C. Quantitative structure-activity relationships and the unnamed science Acc. Chem. Res., 26, 147 (1993).

HANSCH, C; et al. Exploring QSAR. Fundamentals and Applications in Chemistry and Biology, ACS, Washington, DC (1995).

HEINZEN, V.E.F; et al. Correlation of Activity of 2-(X-benzyloxy)-4,6-dimethoxyacetophenones with topological indices and with the Hansch Equation. II Farmaco, 54, 125 (1999).

HOF, H. Antimicrobial therapy with nitroheterocyclic compounds, for example, metronidazole and nitrofurantoin. Immunitat und Infektion, 16, 220 (1988).

HUNSKAAR, S; et al. The formalin teste in mice: Dissociation between inflammatory and non-inflammatory pain. Pain, 30, 103 (1987).

HUTCHINSON, S.A; et al. A New Synthesis of the Benzofuran Adenosine Antagonist XH-14, Bioorg. Med. Chem. Letters, 7, 3081 (1997).

JANUSZ, J.M; et al. New Cyclooxygenase-2/5-Lipoxygenase Inhibitors. 2. 7-*tert*-Butyl-2,3-dihydro-3,3-dimethylbenzofuran Derivatives as Gastrointestinal Safe Antiinflammatory and Analgesic Agents: Variations of the Dihydrobenzofuran Ring. J. Med. Chem., 41, 1124 (1998).

JOHNSON, F; et al. Process for ring acylation of phenols. United States Patent US3.985.783 (1976).

JONES, W.D. Antiallergic agents. Xanthone-2,7-dicarboxylic acid derivatives. J. Med. Chem., 20, 594 (1977).

KATZUNG, B.G. Basic & Clinical Pharmacology, Sixth Edition (1995).

KINGHORN, D.A; Pharmacognosy in the 21st century. J. Pharm. Pharmacol. 53, 135 (2001).

KINGSTON, D.G.I. The Chemistry of Taxol. Pharmac. Ther_ 52, 1 (1991).

KOGA, H; et al. Xanthones Derivatives and Process for Producing the same. United States Patent US4.816.479 (1989).

LI, F; et al. Microwave-Assisted Synthesis of Diaryl Ethers without Catalyst. Organic Lett., in press (2003).

LIKHITWITAYAWUID, K; et al. Antimalarial Xanthones from *Gracinia cowa*. Planta Med. 64, 70 (1998).

LIMA, E.O; et al. Efeito Antifúngico da Xantoxilina. Anais do XIII Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil, Fortaleza-CE, 122 (1994).

LIN, C.N; et al. γ -Pyrone Compounds II: Synthesis and Antiplatelet Effects of Tetraoxygenated Xanthones. J. Pharm. Sci., 81, 1109 (1992).

LIN, C.N; et al. γ -Pyrone Compounds IV: Synthesis and Antiplatelet Effects of Mono- and Dioxygenated Xanthenes and Xanthonoxypropanolamine. J. Pharm. Sci., 82, 11 (1993).

LIN, C.N; et al. Synthesis and Anti-inflammatory Effects of Xanthone Derivatives. J. Pharm. Pharmacol, 48, 532 (1996a).

LIN, C.N; et al. Xanthone Derivatives as Potential Anti-cancer Drugs. J. Pharm. Pharmacol, 48, 539 (1996b).

LIN, C.N; et al. Synthesis and Pharmacological Activity of a Series of Novel Xanthone Derivatives. United States Patent US5.495.005 (1996c).

LINDLEY, J. Copper Assisted Nucleophilic Substitution of Aryl Halogen. Tetrahedron, 40, 1433 (1984).

LING, H.R; et al. Screening of 25 compounds isolated from *Phyllanthus* species for anti-human hepatitis B virus in vitro. Phytotherapy Res., 17, 449 (2003).

LIU, J; et al. Genus *Phyllanthus* for chronic hepatitis B virus infection: a systematic review. J. Viral Hepatitis, 8, 358 (2001).

LUNARDI, F; et al. Trypanocidal and Leishmanicidal Properties of Substitution-containing Chalcones. Antimicrob. Agents Chemother, 47, 1449 (2003).

MACIEL, M.A.M; et al. Plantas Medicinais: A Necessidade de Estudos Multidisciplinares. Quim. Nova, 25, 429 (2002).

MANN, G; et al. Palladium-Catalyzed C-O Coupling Involving Unactivated Aryl Halides. Sterically Induced Reductive Elimination to Form the C-O Bond in Diaryl Ethers. J. Am. Chem. Soc., 121, 3224 (1999).

MANNHOLD, R; et al. QSAR: Hansch Analysis and Related Approaches, VCH, Weinheim, (1993).

MARINI-BETTOLO, G.B; et al. Plant screening by chemical and chromatographic procedures under field conditions. J. Chromatogr, 213, 113 (1981).

MIGUEL, O.G. Componentes Químicos de *Sebastiania schottiana* Muell. Arg., Hipoteses sobre a correlação entre estrutura química e atividade farmacológica. Dissertação de Mestrado, UFSC, Florianópolis-SC. (1987).

MITSCHER, L.A; et al. Antimicrobial Agents from Higher Plants I: Introduction, Rationale and Methodology. Lloydia, 35, 157 (1972).

MONTANARI, C.A. Química Medicinal: Contribuição e Perspectiva no Desenvolvimento da Farmacoterapia. Quim. Nova, 18, 56 (1995).

MONTANARI, C.A. On flexible fitting using the molecular similarity index. A neural network analysis for antileishmaniasis compounds. Quant. Struct.-Act. Relat., 16, 480 (1997).

MONTANARI, C.A. Brazilian Medicinal Chemistry in the next Decade. Quim. Nova, 23, 134 (2000).

MONTANARI, C.A; et al. Drug Design based on Natural Products. Quim. Nova, 24, 105 (2001).

MOREAU, S; et al. (2-Arylhyaazonomethyl)-substituted Xanthenes as Antimycotics: Synthesis and Fungistatic Activity against *Candida* species. Eur. J. Med. Chem., 37, 237 (2002).

NOTKA, F; et al. Inhibition of wild-type human immunodeficiency virus and reverse transcriptase inhibitor-resistant variants by *Phyllanthus amarus*. Antiviral Res., 58, 175 (2003).

PANDEY, R.C. Prospecting for Potentially New Pharmaceuticals from Natural Sources. Xechem, Inc., Research Laboratory, NJ (1998).

PEARSON, A.J; et al. Studies on Selective Nucleophilic Substitution Reaction of [(Cyclopentadienyl)(1,3-dichlorobenzene)M]⁺ PF₆⁻ Complexes (M = Fe, Ru). J. Org. Chem., 57, 3583 (1992).

PICKERT, M; et al. Substituted Xanthenes as Antimycobacterial Agents, Part 1: Synthesis and Assignment of $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ NMR Chemical Shifts. Arch. Pharm. Pharm. Med. Chem., 331, 177 (1998a).

PICKERT, M; et al. Substituted Xanthenes as Antimycobacterial Agents, Part 2: Antimycobacterial Activity. Arch. Pharm. Pharm. Med. Chem., 331, 193 (1998b).

PILLAI, R.K.M; et al. Thermorubin II: 1,3-Dihydroxy-9H-xanthenes and 1,3-Dihydroxy-9H-xanthenes. New Methods of Synthesis. J. Org. Chem., 51, 717 (1986).

PINHEIRO, T.R. Isolamento, Identificação e Avaliação do Potencial Farmacológico dos Constituintes de *Polygala cyparissias* St. Hill. & Moq. Dissertação de Mestrado, UFSC, Florianópolis-SC. (1996).

PINHEIRO, T.R; et al. Three Xanthenes from *Polygala cyparissias*. Phytochem, 48, 725 (1998).

PINTAO, A.M; et al. In vitro and in vivo antitumor activity of benzyl isothiocyanate: a natural product from *Tropaeolum majus*. Planta Med., 61, 233 (1995).

RADL, S; et al. Synthesis and analgesic activity of some substituted 1-benzofurans, 1-benzothiophenes and indoles. Collec. Czechoslovak Chem. Communications, 65, 280 (2000).

RAI, M.; et al. Plant-Derived Antimycotics: Current Trends and Future Prospects. Chapter 1, New York, USA, (2003).

RAMPA, A; Structure-activity relationships studies in the field of calcium antagonist. Xanthone 1,4-dihydropyridines bearing a 2,3-lactone ring. Drug Res., 45, 957 (1995).

RASKIN, I; et al. Plants and Human Health in the Twenty-first Century. Trends Biotechnol, 20, 522 (2002).

RATES, S.M.K. Plants as source of drugs. Toxicon, 39, 603 (2001).

ROMEIRO, L.A.S; et al. New therapeutic strategies for the treatment of depression: A medicinal chemistry view. Quim. Nova, 26, 347 (2003).

SARAIVA, L; et al. Synthesis and In Vivo Modulatory Activity of Protein Kinase C of Xanthone Derivatives. Bioorg. Medic. Chem, 10, 3219 (2002).

SHRINER, R.L; et al. Identificação Sistemática dos Compostos Orgânicos: Manual de Laboratório. Sexta Edição, Guanabara 2 – Rio de Janeiro (1983).

SMITH, K; et al. A Superior Synthesis of Diaryl Ethers by the Use of Ultrasound in the Ullmann Reaction. J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1, 407 (1992).

SOLOMONS, T.W.G. Organic Chemistry 6th Edition, New York, USA (1996).

STORM, J.P; et al. A New Route to Xanthenes and Thioxanthenes based on η^6 -2-Chloro-*N,N*-Diethylbenzamide- η^5 -Cyclopentadienyl Iron Hexafluorophosphate. Synlett, 7, 975 (2000).

THEIL, F. Synthesis of Diaryl Ethers: A Long-Standing Problem has been solved. Angew. Chem. Int. Ed., 38, 2345 (1999).

TOPLISS, J.G. Utilization of Operacional Schemes for Analog Synthesis in Drug Design. J. Med. Chem., 15, 1006 (1972).

TOPLISS, J.G. A Manual Method for Applying the Hansch Approach to Drug Design. J. Med. Chem., 20, 463 (1977).

UGAZ, O. L. Investigación Fitoquímica. Pontificia Universidad Catolica Del Peru, 2^a Edición, Fondo Editorial, Lima - Peru (1994).

VAZ, Z.R; et al. Antinociceptive Action of 2-(4-Bromobenzoyl)-3-Methyl-4,6-Dimethoxy Benzofuran, a Novel Xanthoxylene Derivative on Chemical and Thermal Models of Nociception in Mice. J. Pharmacol. Exp. Ther., 278, 304 (1996).

VOGEL, A.I. Vogel's Textbook of Practical Organic Chemistry, Fifth Edition (1989).

WASICKY, R. As raízes de *Polygala cyparissias* A. St. Hill. Um sucedâneo de pleno valor das raízes de *Polygala senega* L. (*Polygala* de Virgínia, *Senega*). Anais da Faculdade de Farmácia e Odontologia, USP - São Paulo, Faculdade de Farmácia e Odontologia, 4, 189 (1944).

WRIGHT, L; et al. J. Antimicrob. Chemother., 12, 317 (1983).

WINDHOLZ, M; et al. The Merck Index, 20 Edition, 9874, New Jersey, USA (1983).

YUNES, R.A; et al. Fármacos e Fitoterápicos: A Necessidade do Desenvolvimento da Indústria de Fitoterápicos e Fitofármacos no Brasil. Quim. Nova, 24, 147 (2001).

YUNES, R.A; et al. From the Manual Method of Topliss to a Modified Quantitative Method. Drug Res., 52, 125 (2002).

ZACCHINO, S.A; et al. In vitro evaluation of antifungal properties of 8,O,4'-neolignans. J. Nat. Prod., 60, 659 (1997).

ZACCHINO, S.A; et al. Estratégias para a descoberta de novos Agentes Antifúngicos 1ª Edição (2003).

ANEXOS

Espectros do Composto (5)